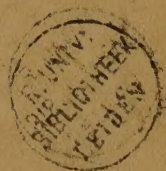


**Pflanzenphysiologische Wirkung
des systemischen Insektizids „Systox“
(Diäthyl-thionophosphorsäureester
des β -Oxäthyl-thioäthyläthers)**

**Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der philosophischen Fakultät
der Philipps-Universität
zu Marburg**



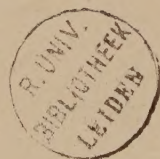
*Vorgelegt von Richard W. Wäckers
aus M.-Gladbach*

Marburg 1954

Pflanzenphysiologische Wirkung
des systemischen Insektizids „Systox“
(Diäthyl-thionophosphorsäureester
des β -Oxäthyl-thioäthyläthers)

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der philosophischen Fakultät
der Philipps-Universität
zu Marburg

*Vorgelegt von Richard W. Wäckers
aus M.-Gladbach*



Marburg 1954

Als Dissertation angenommen am 21. Dezember 1954

Berichterstatter: Professor Dr. A. Pirson

Mitberichterstatter: Professor D. H. J. Bogen

Tag der mündlichen Prüfung: 22. Dezember 1954

Gedruckt mit Genehmigung der Fakultät

Sonderdruck aus „Höfchen-Briefe“ 6/55
der FARBENFABRIKEN BAYER AKTIENGESELLSCHAFT, Leverkusen,
Pflanzenschutz-Abteilung

GLIEDERUNG

I. Einleitung	5
II. Material und Methode	7
III. Experimenteller Teil	13
A. Wachstumsmessungen	13
1. Prüfung des systemischen Insektizids „Systox“ im Kressewurzeltest	13
2. Wirkung höherer „Systox“-Konzentrationen auf das Wachstum der <i>Lemna</i> -Wurzeln	14
3. Trockengewichtszunahme von Einzellersuspensionen bei Gegen- wart von „Systox“ und „Schradan“	15
4. Morphologische Veränderungen von <i>Ankistrodesmus</i> -Zellen in „Systox“-Lösung	17
B. „Systox“-Konzentrationen in fettarmen und fettspeichernden Algen	20
C. Atmungsmessungen (<i>Ankistrodesmus</i> , <i>Chlorella</i> , <i>Helodea</i> , <i>Trades-</i> <i>cantia</i> -Wurzeln)	24
1. Atmung in „Systox“-Konzentrationen von 0,0001—0,01 %	25
2. Wirkung einiger mit „Systox“ verwandter Stoffe auf die Atmung	28
3. CO ₂ -Abgabe bei Gegenwart höherer „Systox“-Konzentrationen .	31
4. Reversibilität der Atmungssteigerung	32
5. Wirkung von „Systox“ auf Atmung und synthetischen Wirkungs- grad von <i>Ankistrodesmus</i> und <i>Chlorella</i> in glukosehaltiger Nähr- lösung	33
6. Respiratorischer O ₂ -Verbrauch von Wurzeln in „Systox“-Lösung	37
D. Photosynthesemessungen	39
1. Einfluß verschiedener „Systox“-Konzentrationen auf die Photosynthese	39
2. Reversibilität der Photosynthesedepression	42
E. Nitratassimilation (Gaswechselquotienten)	45
1. Lage des respiratorischen Quotienten bei Gegenwart von „Systox“ in Nitratsnährlösung	45
2. Messungen des respiratorischen Quotienten in Nährlösung mit Ammonsalz als Stickstoffquelle	46

3. Lage des photosynthetischen Quotienten bei Gegenwart von „Systox“	47
F. Anhang: Freilandversuche an <i>Vicia faba</i> L.	49
IV. Diskussion der Ergebnisse	54
V. Zusammenfassung der Ergebnisse	58
VI. Formelanhang	60
Literaturübersicht	63

I. Einleitung

Vor einigen Jahren erschienen auf dem Weltmarkt die ersten systemisch* wirkenden Pflanzenschutzmittel. Es wurde so erstmalig möglich, mit einer praktisch brauchbaren Methodik innertherapeutisch* gegen Pflanzenschädlinge vorzugehen.

Im Gegensatz zu der früheren rein äußerlichen Applikation hat man damit heute die Möglichkeit, ein insektizid wirksames Präparat in die Leitbahn und in die Zellen der Pflanzen einzubringen. Die außerordentlichen Vorteile, die eine solche systemische Therapie bietet, brauchen hier im einzelnen nicht diskutiert zu werden. Erwähnt sei nur die Beständigkeit der so erzielten insektiziden Wirkungen gegen Witterungseinflüsse, damit verbunden die gute Dauerwirkung, die Erfolgsmöglichkeiten gegen versteckt sitzende oder minierende Schädlinge und die Ungefährlichkeit der Mittel gegen Nützlinge nach Eindringen des Präparates in die Pflanze (ökologische Selektivität).

Gleichzeitig traten mit der Einführung systemischer Insektizide auch eine große Zahl von neuen Problemen auf, die bisher gar nicht oder nicht in diesem Umfang für die Phytopathologie von Bedeutung waren.

Bei der bisherigen ektotherapeutischen Anwendung der Pflanzenschutzmittel spielte die Pflanze im wesentlichen nur eine passive Rolle als Träger der applizierten Substanz. Durch den Einsatz systemischer Mittel dagegen wird sie zu einem aktiven Faktor. Die Pflanze gewinnt Einfluß auf die Aufnahme der Präparate, auf den Transport, die Beständigkeit und die Ausscheidung der dargebotenen Mittel.

Umgekehrt hat auch das in die Pflanze eingedrungene Präparat in weit höherem Maße als das auf der Pflanzenoberfläche verbleibende Mittel die Möglichkeit, bestimmenden Einfluß auf das physiologische Geschehen in der Pflanze zu nehmen. Danach ergibt sich mit der Einführung der systemisch wirkenden Pflanzenschutzmittel die Notwendigkeit, Art, Umfang und Bedeutung der Wechselbeziehungen zwischen Pflanze und Präparat zu untersuchen. Hier ist somit eine neue und enge Verbindung zwischen angewandter Botanik und Pflanzenphysiologie entstanden.

Als erstes systemisch wirkendes Insektizid erschien im Jahre 1952 das Präparat „Systox“ der Farbenfabriken Bayer Aktiengesellschaft auf dem deutschen Markt. Der insektizide Anteil des Präparates ist der Diäthyl-thionophosphorsäure-ester des β -Oxäthyl-thioäthyläthers. Unter der werksinternen Kennnummer „8169“ war „Systox“ bereits seit mehreren Jahren im In- und Ausland praktisch durchgeprüft worden (Ashdown und Corder, Bosse, Zattler u. v. a.).

Trotz der besonders hohen Ansprüche, die an die Pflanzenverträglichkeit eines systemischen Mittels gestellt werden müssen, hatte sich in extensiv angelegten Versuchen herausgestellt, daß das Präparat eine recht gute zellphysiologische Verträglichkeit zeigt. Gewisse Störungen traten lediglich bei einigen Apfelsorten (McIntosh, Melba, Guldborg) und bei der Chrysantheme Blanche Poitevine auf.

* Der Begriff der „inneren Therapie der Pflanze“ wurde Mitte der zwanziger Jahre von A. Müller eingeführt. Martin schlug 1947 den Begriff „systemisches“ Pflanzenschutzmittel vor, der sich mehr und mehr durchzusetzen scheint.

Über diesen Befund hinaus weisen eine ganze Reihe von Arbeiten übereinstimmend darauf hin, daß die Erträge, die Wuchsfreudigkeit und das Aussehen der mit Phosphorsäureestern, besonders aber der mit „Systox“ behandelten Pflanzen sich ganz wesentlich von den Kontrollparzellen abhebt, auch dann, wenn kein nennenswerter Schädlingsbefall vorliegt (Endrigkeit, Kasting und Woodward, Ripper und Mitarb. 1949, Wolfenbarger, Zattler 1951 und 1952).

Bei allen derartigen Angaben handelt es sich um Mitteilungen von Ergebnissen aus Freilandversuchen. Bei ihrer Bewertung muß man sich daher über die Möglichkeiten und Grenzen eines Freilandversuches Klarheit verschaffen. Der Feldversuch ist nicht so sehr ein unmittelbares Forschungsmittel, sondern er dient im wesentlichen nur der Überprüfung von gewonnenen Erkenntnissen unter Freilandbedingungen. Die Fülle der im Freiland einwirkenden Faktoren macht meist eine eindeutige kausale Analyse unmöglich.

Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich hauptsächlich mit der Frage nach der zellphysiologischen Verträglichkeit des „Systox“. Es sollten Untersuchungen über die Natur der nach Überdosierung beobachteten Schäden und auch über evtl. Förderungswirkungen des Präparats auf die behandelte Pflanze angestellt werden. Um die Probleme soweit wie möglich auf die zellphysiologischen Grundlagen zurückführen zu können, mußten sich die Untersuchungen im wesentlichen auf den Laboratoriumsversuch stützen. Mit den so gewonnenen Ergebnissen lassen sich dann Beobachtungen der Praxis und Resultate von Freilandversuchen deuten und unter Umständen einer Kausalanalyse näherbringen.

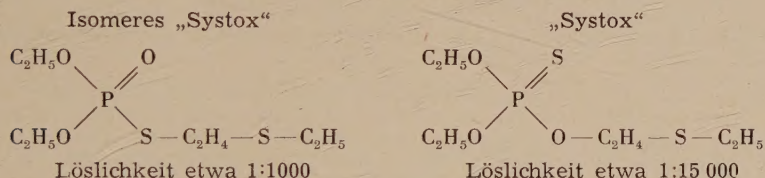
II. Material und Methode

1. Präparat

Das im Handel befindliche Präparat „Systox“* setzt sich zu je 50 % aus dem Wirkstoff** und aus dem Emulgator 233 zusammen.

Bei dem Emulgator handelt es sich um eine polyzyklische Verbindung mit einer Polyoxäthylenkette. In der Gruppe $(-O-CH_2-CH_2-)$ hat n eine Größe von etwa 10. Stoffe dieser Art besitzen ein geringeres Netzvermögen als die jonisierten Netzmittel des Paraffinkettensalttyps. Sie haben dagegen in weit höherem Maße die Fähigkeit, Grenzflächenspannungen zu erniedrigen und sind daher als Emulgatoren ganz besonders geeignet.

Der Wirkstoff des Handelspräparates besteht aus einem Gemisch des „Systox“ (P=S-Isomere) und des isomeren „Systox“ (P=O-Isomere), in dem die P=S-Isomere den Hauptbestandteil darstellt. Die physikochemischen Daten zu diesen Stoffen finden sich bei Schrader. Hier interessiert insbesondere die stark unterschiedliche Wasserlöslichkeit der beiden Substanzen. Die benutzten Präparate lösten sich in Wasser (Aqua dest. 18°) in folgendem Verhältnis:



In der vorliegenden Arbeit wurden nebeneinander das Handelspräparat, die beiden reinen „Systox“-Isomeren und der Emulgator geprüft. Weiter wurden einige Versuche mit dem als Nebenbestandteil vorkommenden Triäthylphosphat durchgeführt. Vergleichend zu diesen Untersuchungen wurde außerdem das Oktamethyltetrapyrophosphorsäureamid („Schradan“) herangezogen. Das benutzte Präparat hatte einen Wirkstoffanteil von 66 %.

2. Algenanzucht

Um die Vorzüge des Laboratoriumsversuchs voll auszunutzen, wurden einfach organisierte Versuchsobjekte verwandt, insbesondere einzellige Grünalgen. Diese Einzeller sind jederzeit unter exakt zu definierenden Bedingungen zu kultivieren und bieten gegenüber höheren Pflanzen den Vorzug, daß Gaswechselreaktionen nicht durch den Einfluß von Spaltöffnungen, Interzellularen

* Herrn Dr. G. Schrader danke ich an dieser Stelle für eine Reihe wertvoller Anregungen und für die Überlassung der für die Untersuchungen benötigten Präparate.

** Die Bezeichnung „Wirkstoff“ wird seit mehr als 25 Jahren zusammenfassend für Vitamine, Fermente und Hormone gebraucht. Die Übertragung dieser Bezeichnung auf die phytotherapeutisch wirksamen Anteile der Pflanzenschutzmittel ist daher nicht glücklich. Insbesondere erscheint es unlogisch, den Begriff in pflanzenphysiologischer Fragestellung zu gebrauchen, wenn man andererseits fordert, daß der „Wirkstoff“ der Pflanze gegenüber möglichst ohne Wirkung sein soll. Der Begriff hat sich aber dennoch mehr und mehr eingebürgert, um diese Substanzen von den beigegebenen Inertmaterialien, Netzmitteln und Emulgatoren zu unterscheiden. Er soll daher auch hier in diesem Sinne gebraucht werden.

und anderen Faktoren verwischt oder entstellt werden. Eine mit solchen Standardobjekten gewonnene Erfahrung läßt sich allerdings nicht ohne Kritik auf die in der Praxis bei Kulturpflanzen vorliegenden Verhältnisse übertragen.

Als Versuchsobjekt diente ein im Marburger Botanischen Institut isolierter Stamm von *Ankistrodesmus braunii* (Nägeli) Brunnthaler, der bereits vielfach zu stoffwechselphysiologischen Untersuchungen herangezogen worden ist (Pirson, Tichy und Wilhelmi; Pirson und Kellner; Kessler; Krollpfeiffer). Neben *Ankistrodesmus* wurde zu einigen Versuchen auch ein Stamm der Grünalge *Chlorella vulgaris* (Beijerinck) herangezogen (Sammlung Pringsheim No. 211/11 h). Die Algen wurden auf Knop-Schrägagar steril kultiviert und von diesen Stammkulturen jeweils in die von Pirson und Mitarb. in Anlehnung an Alberts-Dietert angegebene Kulturlösung überführt.

Soweit nicht anders erwähnt, wurden die Versuche in einer Nährlösung mit Nitrat als Stickstoffquelle durchgeführt. Für die vorliegenden Arbeiten hatte die Nitratlösung zwei methodische Vorzüge:

1. Die verwandte Nährlösung ist im pH-Bereich zwischen 4 und 5 besser abgepuffert als die entsprechende Ammonlösung. Bei einer Einstellung des pH-Werts mit verdünnter Phosphorsäure treten daher bei Verwendung von NO_3 -Lösung weniger Schwierigkeiten auf als bei der Ammonlösung, deren pH-Wert sich in diesem Bereich leichter verschiebt.
2. In den Versuchen war es notwendig, die Algen jeweils bei Versuchsbeginn in frische Lösung zu überführen. Bei Kultur in Nitratlösung treten dabei keinerlei Schwierigkeiten auf, während Ammonkulturen bei derartiger Behandlung meist ausflocken. Diese Störung ist zu vermeiden, wenn man das Algenzentrifugat unter Umrühren aus den Zentrifugengläsern in die Versuchslösung eintropfen läßt.

Als Kulturgefäße für die Nährlösungskulturen dienten 500 ml Kolben aus Jenaer Geräteglas (G 20). Die Anzucht erfolgte im Dauerlicht (Glühfadenbirne im Bereich der Kolben 800 Lux) bei etwa 24° in den Kulturkolben.

Die Kulturen wurden mit einem Luft- CO_2 -Gemisch (6 % CO_2) durchlüftet. Luft und Kohlendioxyd wurden Stahlflaschen entnommen und dann zur Reinigung und Wassersättigung durch mehrere Wattefilter und durch mehrere Waschflaschen (mit Glassinternutschen) mit Wasser bzw. Kaliumpermanganatlösung geschickt. Um die Möglichkeit zu haben, das Mischverhältnis der Gase stets exakt zu überprüfen, wurde der Luft- und der CO_2 -Strom durch Kapillarströmungsmesser geleitet. Ca. 5 l Luft- CO_2 -Gemisch durchströmten stündlich die einzelnen Kulturkolben.

Für die Versuche wurden durchweg 5 bis 7 Tage alte Kulturen benutzt. Die Impfmenge betrug jeweils 0,5 mg Trockengewicht. Die Algen wurden zum Versuch aus der Kulturlösung abzentrifugiert und in frische Nährlösung überführt. Soweit erforderlich ($\pm$ KOH-Methode, Photosynthese-Messungen), waren die Versuchslösungen mit verdünnter Phosphorsäure auf pH 4,0–4,5 eingestellt worden. Gelegentlich wurde nach Abschluß des Versuchs durch Zukippen von Trichloressigsäure festgestellt, daß der pH-Wert noch nicht bis in den Retentionsbereich angestiegen war.

Parallelmessungen wurden an Blättern der Wasserpest (*Helodea canadensis* Rich.) durchgeführt, die ohne Schwierigkeiten in der üblichen Weise im Aqua-

rium in Leitungswasser zu kultivieren ist. Auch die Kultur der benutzten *Tradescantia*-Stecklingswurzeln bietet keine Besonderheiten. Zuckerrübenwurzeln wurden wegen der hier zu umständlichen Anzucht nur zu einigen vergleichenden Messungen herangezogen. Nach der in der Literatur beschriebenen Methodik wird das Monogermisatgut auf Schrägagar zur Keimung gebracht (s. v. Rümker). Pro Versuchskölbchen wurden jeweils 10—15 mg Trockengewichtssubstanz benötigt, pro Versuch (12 Kölbchen) also etwa 150 mg Wurzeln.

3. Manometrische Methodik

Eine Anwendung der manometrischen Methode schien geraten, da die bisher vorliegenden Ergebnisse keine sehr starken stoffwechselphysiologischen Effekte nach „Systox“-Gaben erwarten ließen und somit eine Methode gewählt werden mußte, die es gestattet, möglichst kurzfristig auch kleinste Ausschläge noch sicher zu erfassen.

Die manometrischen Versuche wurden alle bei 24 ° und, soweit nicht anders angegeben, mit 8 ml Algen-Suspension in kastenförmigen Gefäßen (22 ml) durchgeführt. Für die Quotientenbestimmungen wurde das Warburggerät Typ S mit Beleuchtungsanlage der Firma Braun, Melsungen, benutzt, die übrigen Messungen wurden an einem Gerät einfacherer Bauart durchgeführt (Schüttelfrequenz etwa 120/min., Amplitude 3 cm).

Als Maß für die Atmungsintensität wurde der respiratorische O_2 -Verbrauch nach der direkten KOH-Methode bestimmt. Zur Bestimmung des RQ ($-CO_2/O_2$) wurde die $\pm$ KOH-Methode, zur Bestimmung des PQ ($-O_2/CO_2$) die Gefäß-Differenz-Methode (vgl. Pirson, Krollpfeiffer und Schäfer) benutzt. Alle anderen Photosynthesemessungen wurden nach der direkten Zweigas-Methode (unter der Annahme von $\gamma = -1$) durchgeführt. Die benutzten Formeln befinden sich im Anhang. Ableitung der Formeln und eingehende Besprechung der Methodik finden sich bei Krebs, Umbreit, Burris und Stauffer und bei Dixon.

Bei den Photosynthesemessungen wurden (mit Ausnahme der Quotienten-Bestimmungen) zur Beleuchtung des Versuchs vier Leuchtstofflampen in einem Abstand von ungefähr 45 cm über den Reaktionskölbchen angebracht. Als Reflektor diente eine mit weißem Heizkörperlack ausgestrichene Wanne. Zwei Spiegel unter den Gefäßen verbesserten die Lichtausbeute. Die Innenflächen des Wasserbades waren weiß gestrichen.

Bei den benutzten Leuchtstofflampen handelte es sich um Philips HPL-Lampen (125 W). Die spektrale Energieverteilung dieser Lampen geht aus Abbildung 1 hervor. Leuchtstofflampen dieser Art bieten den großen Vorteil, daß man damit ohne wesentlich störende Erwärmung des Wasserbades den Versuch ausreichend stark beleuchten kann, da die Lampen oberhalb des Wellenbereichs von etwa 700 m μ keine nennenswerten Energien mehr ausstrahlen. In der gewählten Anordnung wurden im Bereich der Reaktionsgefäße unter Wasser 8500 bis 9000 Lux gemessen. Es ließ sich zeigen, daß damit unter den gegebenen Bedingungen für die Algen der Lichtsättigungsbereich erreicht war.

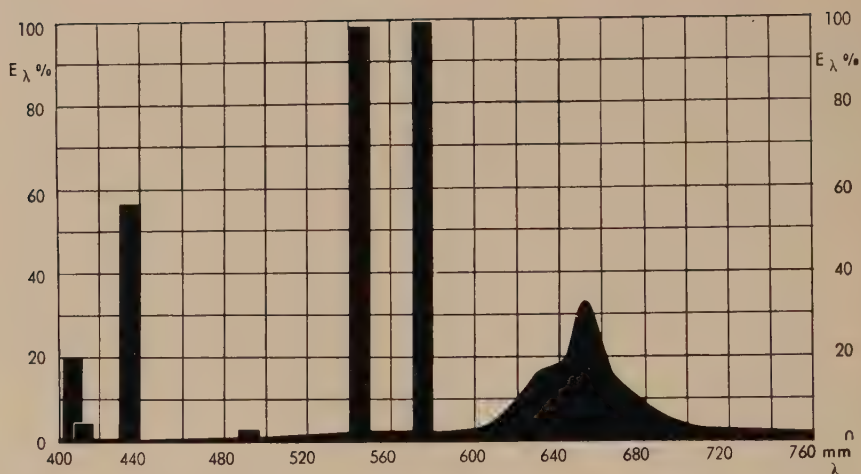


Abb. 1 Spektrale Energieverteilung der Philips HPL-Lampe, 125 W (nach Angaben der Philips AG Hamburg)

4. Tracermethodik

In einer Reihe von Versuchen wurde mit einer mit ^{32}P markierten „Systox“-P=S-Verbindung gearbeitet. Eine eingehende Besprechung der Tracermethodik erübrigt sich in dem hier gebotenen Rahmen. Ausführliche methodische Angaben finden sich bei Schubert und Mitarb., Martin und Mitarb. und bei Russel und Martin. Besondere methodische Hinweise zur Arbeit mit markiertem „Systox“ gibt Tietz.

Das verwandte Meßgerät ist im Physikalischen Labor der Farbenfabriken Bayer Aktiengesellschaft (Dr. Sybertz) entwickelt worden. Das Zählgerät besitzt eine 32fache Untersetzung. Die weiche Strahlung des Phosphors macht einen engen Kontakt zwischen der zu messenden Substanz und dem Zählrohr notwendig. Es wurde daher ein Flüssigkeitszählrohr der Firma Friesecke und Höpfner (Erlangen) verwendet. Die benutzten Zählrohre haben für ^{32}P eine Ansprechwahrscheinlichkeit von ca. 8 %.

Die Messungen wurden bei einer Zählrohrspannung von 1280 Volt durchgeführt. Bei einem Plateau des Zählrohrs von 1020–1400 Volt war somit Unabhängigkeit der Meßwerte von evtl. Spannungsänderungen gewährleistet. Jeder Meßwert ist das Mittel aus drei Messungen über 5 Min. Jeder Einzelmessung ging eine Nulleffektmessung über 3 Min. voraus. Alle durchgeführten Messungen sind Relativ-Messungen. Es erübrigt sich damit eine Eichung des Zählrohrs und die Bestimmung der spezifischen Aktivität des Präparats. Schließlich entfallen auch, bei Verwendung einer stets gleichen Menge der Meßflüssigkeit (10 ml), die bei Absolutmessungen notwendigen Korrekturen für Absorption und Selbstabsorption.

Um die Meßergebnisse vergleichbar zu machen, sind die gewonnenen Ablesewerte dreifach zu korrigieren (Schubert 1951) (Formeln zur Korrektur s. Formelanhang). Bei allen vorliegenden Meßwerten sind diese drei Korrekturen durchgeführt. Die Impulszahlen, die sich nach den Korrekturen ergeben, sind als Funktion des Präparatgehalts auszudrücken. Diese Funktion läßt sich

für das benutzte Präparat in der in Abb. 2 wiedergegebenen Weise darstellen. Die Meßwerte dieser graphischen Darstellung wurden aus den Messungen von Standardkonzentrationen gewonnen. In gleicher Weise wie die Standardkonzentrationen wurden die Versuchslösungen gemessen. Aus den sich ergebenden Impulszahlen läßt sich dann durch Vergleich mit den Ergebnissen der Standardmessung nach Abb. 2 der Gehalt der Versuchslösung an ^{32}P direkt ermitteln.

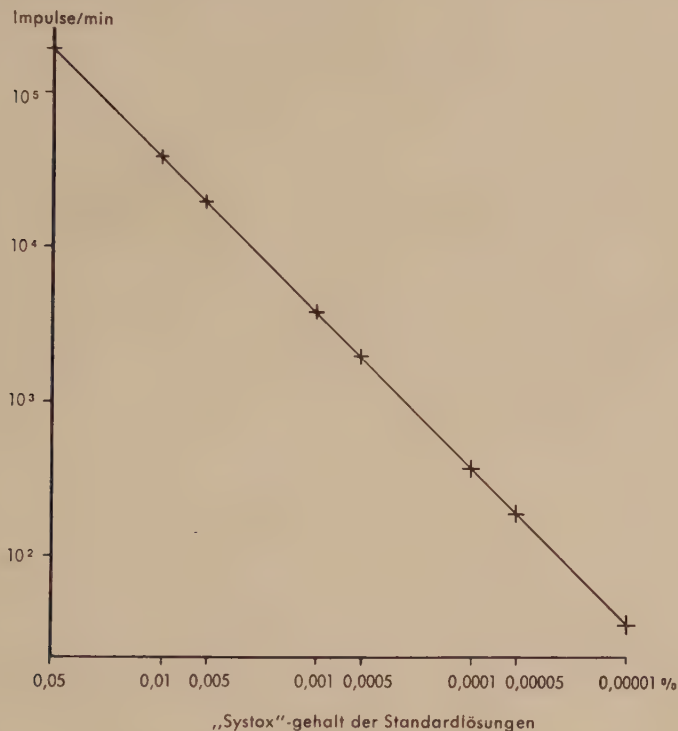


Abb. 2 Gemessene Impulse bei verschiedenen Konzentrationen der ^{32}P markierten „Systox“-Standardlösung

5. Kressewurzeltest

Zur Prüfung der Pflanzenverträglichkeit eines Präparats unter reproduzierbaren Bedingungen im Laborversuch sind verschiedene Testverfahren entwickelt worden. In den vorliegenden Untersuchungen wurde zur Prüfung einer Förderungs- oder Hemmwirkung des „Systox“ der Kressewurzeltest nach Moewus (1948, 1949) benutzt. Der Kresstest bietet eine Reihe von methodischen Schwierigkeiten, zu denen in den letzten Jahren mehrfach kritisch Stellung genommen wurde (Reinert, Clauss).

Moewus selbst hatte bei Verwendung von Kressesamen aus verschiedenen Ernten Differenzen von 20 %. Auch Niemann fand, daß die Streuung der Mittelwerte bei ungleichzeitiger Bestimmung erheblich zunimmt, da die Re-

aktionsbereitschaft der Kressewurzel aus noch ungeklärten Gründen stark schwankt. Ist man nicht auf die Durchführung fortlaufender Versuchsreihen angewiesen, so läßt sich diesen Schwierigkeiten leicht dadurch begegnen, daß man in jedem Versuch Wasser-Kontrollen und Standardlösungen mitlaufen läßt.

Bei der Beurteilung der Leistungsfähigkeit des Tests ist zu beachten, daß sich die von Moewus angegebenen dreifachen Fehler ($\pm 4\%$) auf die Zuwachswerte der Wurzel, nicht auf die zu testende Wirkstoffkonzentration beziehen (Claus). Bei der Prüfung des „Systox“ wurde der mittlere Fehler berechnet nach:

$$m = \sqrt{\frac{\sum (x - M)^2}{n \cdot (n - 1)}}$$

Der dreifache mittlere Fehler lag zwischen 4 und 5,5 %. Lediglich bei der um 40 % hemmenden Konzentration stieg der dreifache mittlere Fehler auf 10 % an. Der mittlere Zuwachs in der Kontrolle über 18 Stunden lag bei 16 mm. Bezüglich der allgemeinen Methodik sei auf Niemann verwiesen.

Es wurden Kressesamen der Firma Mildebrandt (Köln), Ernte 1953, benutzt. Die Tests wurden nicht in gewöhnlichen Petrischalen, sondern in Petrischalen mit eingeschliffenem Deckel durchgeführt. Man vermeidet dadurch ein zu schnelles Eindampfen der Testlösung in den Schalen. Daneben scheidet man in höherem Maße als bei der Verwendung gewöhnlicher Petrischalen die Einwirkung gasförmiger Störstoffe aus, auf deren Bedeutung Niemann ausdrücklich hinweist. In eigenen Versuchen lagen bei Verwendung von Petrischalen die mittleren Fehler stets höher als in den Testreihen mit Schliffschalen. Alle verwendeten Glasgeräte wurden nicht in Chromschwefelsäure, sondern gründlich mit einem detergierenden Spülmittel gereinigt.

Der benutzte Thermostat zeigte kurzfristige (20 Min.), regelmäßige Schwankungen von $< \pm 1^\circ$. In allen Konzentrationsstufen wurde das Handelspräparat geprüft. In Vorversuchen war festgestellt worden, daß der reine Emulgator in den geprüften Konzentrationsbereichen keine fördernde oder hemmende Wirkung zeigte. — Jeder Meßpunkt ist das Mittel aus 40 Einzelmessungen (= 4 Versuchsgefäße).

III. Experimenteller Teil

A. Wachstumsmessungen

1. Prüfung des systemischen Insektizids „Systox“ im Kressewurzelttest

Mit Hilfe des Kresstestes sollte zunächst geklärt werden, ob in gewissen Konzentrationsbereichen die Zellwachstumsvorgänge, insbesondere das Streckungswachstum, durch „Systox“ gehemmt oder gefördert werden.

Aus Abb. 3 geht hervor, daß in Lösungen mit einem „Systox“-Gehalt von mehr als 0,005 % eine Hemmung des Kressewurzelswachstums einsetzt.

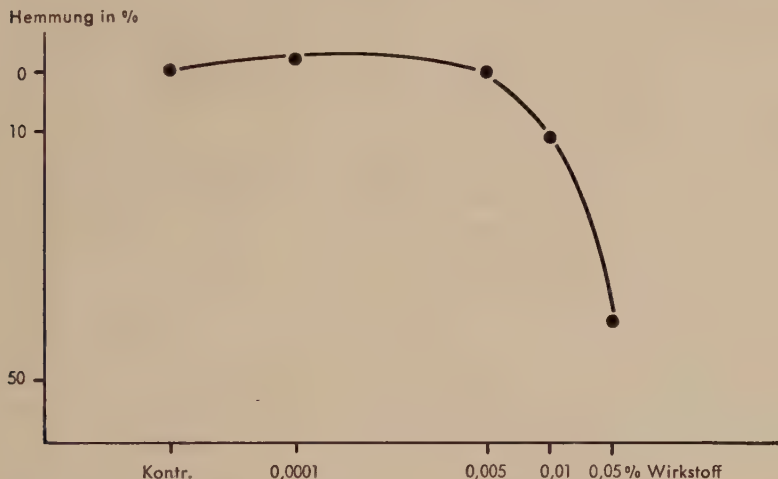


Abb. 3 Prüfung verschiedener „Systox“-Konzentrationen im Kressewurzelttest
 Abszisse: Wirkstoffgehalt der geprüften Lösung
 Ordinate: Hemmung des Wurzelwachstums der Kresse in % (Wasserkontrolle = 0 %)

Mittl. Fehler Kontr.	0,0001 %	0,005 %	0,01 %	0,05 %
1,3 %	1,8 %	1,85 %	1,6 %	3,4 %

Die Kurve zeigt eine gewisse Ähnlichkeit mit der entsprechenden Kurve für „E 605“ forte (Beck). Beim „Systox“ setzt die Hemmung erst eine volle Zehnerpotenz später ein als beim „E 605“. Zwischen 0,005 und 0,05 % ist die Kurve außerordentlich steil, d. h., daß schon eine geringe Verdünnung in diesem Bereich die Hemmwirkung wesentlich herabsetzt. Ein Förderungsbereich in niedrigen Konzentrationen ist nicht vorhanden.

Weitere Untersuchungen müssen hier angeschlossen werden, um zu prüfen, wie weit mit einem Auftreten hemmender Konzentrationen bei Verwendung des Präparates als Gießmittel gerechnet werden muß (s. S. 39).

Vergleicht man die bei Beck wiedergegebene Kurve für „E 605“ mit den bei Froberger aufgeführten Grenzkonzentrationen für Pflanzenschädigungen durch dieses Präparat, so wird deutlich, daß offenbar die Kressewurzel

schon auf Konzentrationen anspricht, die von der ausgewachsenen Pflanze noch durchaus ohne merkliche Schädigung vertragen werden. Eine ähnliche Verschiebung der Reaktionsschwelle ist nach den Erfahrungen der Praxis auch bei „Systox“ zu erwarten (Unterstenhöfer, 1952, Bosse).

2. Wirkung höherer „Systox“-Konzentrationen auf das Wachstum der *Lemna*-Wurzel

Bei den bisher zu Wuchsstofftesten herangezogenen Objekten, so auch bei der Kressewurzel, läßt sich nur in sehr begrenztem Umfang etwas darüber aussagen, ob ein evtl. beobachteter Effekt tatsächlich auf eine Hemmung oder Förderung des Streckungswachstums zurückzuführen ist. Zellteilung und Streckungswachstum lassen sich hier nicht sauber trennen.

Wesentlich günstigere Bedingungen bietet nach den bisher bekanntgewordenen Ergebnissen die Wurzel der Wasserlinse (*Lemna minor*). *Lemna* wurde in den letzten Jahren mehrfach zu stoffwechsel- und zellphysiologischen Untersuchungen herangezogen (Pirson und Seidel, Pirson und Göllner, Göllner).

Nach der von Göllner angegebenen Methodik wird der Gesamtzuwachs der Wurzel an der schwimmenden Pflanze mit Hilfe eines Horizontalmikroskops gemessen. Beim gleichen Objekt wird dann sofort anschließend die Zahl der in einer bestimmten Zellage während der Versuchszeit gebildeten neuen Zellen ausgezählt und die mittlere Zelllänge bestimmt. Zellteilungs- und Streckungsvorgänge werden so isoliert voneinander erfaßt.

Im Frühjahr 1954 prüfte Frl. Reininghaus am Botanischen Institut Marburg nach dieser Methode eine Reihe von Substanzen auf ihre Wirkung auf die *Lemna*-Wurzel. In diesen bisher unveröffentlichten Versuchen wurde auch die „Systox“-P=S-Isomere benutzt. Die Ergebnisse dieser Versuche sind in Tabelle 1 wiedergegeben. Da das Präparat als Emulsion angewandt werden sollte, wurde auch hier der reine Emulgator auf seine Wirksamkeit untersucht.

Tabelle 1. Wirkung verschiedener „Systox“-Konzentrationen auf die Wurzel von *Lemna minor*. Versuchsdauer 48 Std., 22 °, 700—800 Lux.

Konzentration ‰	Zuwachs/h	gebildete Zellen/h	mittl. Zelllänge in μ
0,005		starke Schädigung der Zellen	
0,001	15,9	186,6	85,2
0,0005	17,6	215,5	81,7
0,0001	21,7	252,5	85,9
Kontrolle	21,2	246,0	86,2
Emulg. 0,01 ‰	21,8		

Ähnlich wie im Kresstest geht auch hier der Gesamtzuwachs je h von einer gewissen Grenzkonzentration an zurück. Die übrigen Beobachtungen zeigen, daß weniger die Zellstreckungs- als vielmehr die Zellteilungsvorgänge beeinflußt werden. Ein Vergleich zum Kresstest ergibt, daß die *Lemna*-Wurzeln schon auf Konzentrationen ansprechen, auf welche die Kressewurzeln noch in keiner Weise reagieren.

Derartige Tests zur Prüfung einer Hemm- oder Förderungswirkung auf die Zellwachtumsvorgänge werden vielfach als „Pflanzenverträglichkeitsteste“ angesprochen (Allen und Casida). Es ist aber sicherlich ungerechtfertigt, einem Präparat lediglich deshalb eine gute Pflanzenverträglichkeit zuzusprechen, weil es sich im Wuchsstofftest indifferent verhält. Bei der Beurteilung der Pflanzenverträglichkeit eines Mittels interessiert meist weniger die Beeinflussung eines einzelnen isolierten Wachstums- oder auch Stoffwechselvorgangs als vielmehr eine evtl. Verschiebung der Gesamtstoffwechselbilanz unter der Wirkung des Präparats. Will man daher zur Frage der Pflanzenverträglichkeit eines Mittels Stellung nehmen, so ist die genaue Prüfung der Beeinflussung verschiedener, möglichst zentraler Stoffwechselvorgänge unerlässlich.

3. Trockengewichtszunahme von Einzellersuspensionen

Wie bereits oben erwähnt wurde, war für die weiteren Untersuchungen als Versuchsobjekt u. a. die Grünalge *Ankistrodesmus falcatus* vorgesehen. Es wurde daher notwendig, zunächst festzustellen, ob und in welchen Konzentrationsbereichen diese Alge das Präparat ohne Schäden trägt. Es war zu erwarten, daß die einzelligen Objekte, die während der Versuche mit ihrer ungeschützten, relativ sehr großen Oberfläche direkt mit der Lösung des Präparats in Berührung kommen, empfindlicher als etwa eine gespritzte höhere Pflanze reagieren würden.

Einen recht guten allgemeinen Überblick über die physiologische Gesamtwirkung eines Faktors bekommt man dann, wenn man seine Wirkung auf die Zunahme bzw. Abnahme der Trockengewichtsproduktion untersucht. Bestimmungen der Trockengewichtszunahme lassen sich bei Algensuspensionen naturgemäß weit exakter durchführen als bei höheren Pflanzen. Einmal kann man bei der Untersuchung von Einzellersuspensionen ohne Schwierigkeit immer wieder die Versuche mit einer gleichen, gut definierten Ausgangsmenge des Pflanzenmaterials ansetzen. Zum anderen fallen hier alle individuellen Unterschiede zwischen den einzelnen Versuchsobjekten fort. „Versuchsobjekt“ ist hier der gesamte Kulturkolben mit der großen Anzahl sich statistisch gleich verhaltenden Einzelzellen. Alle zwischen den einzelnen Kulturen auftretenden Differenzen müßten bei gleichmäßiger Versorgung der Kolben mit Licht, Nährsalzen und CO_2 und bei gleicher Versuchstemperatur auf den im Versuch variierten Faktor zurückgeführt werden können.

Methodische Hinweise zur Trockengewichtsbestimmung bei Algen finden sich bei Pirson und Mitarb. (1952). Bei Versuchsbeginn wurde jeder Kulturkolben (180 ml) mit einer Impfmenge beschickt, die gerade 2 mg Trockengewicht entsprach. In diesen Kulturen wurde dann im Verlauf des weiteren Versuchs das Trockengewicht jeweils aus 25 ml der Versuchssuspension bestimmt.

Bei einer durchschnittlichen Temperatur von 24° in den Kolben entwickelten sich die Algen so rasch, daß schon am zweiten Tag nach der Impfung sichere Werte bei der Trockengewichtsbestimmung zu erzielen waren. Abb. 4 faßt zwei Versuche zusammen. Es wurde die Trockengewichtsproduktion in Gegenwart von verschiedenen Konzentrationen eines „Schradan“-Präparates und in Gegenwart von „Systox“ untersucht.

Der Versuch zeigt, daß im Bereich niedriger Konzentrationen die Trockengewichtszunahme in den Kontrollen weitgehend mit den Zunahmewerten in Präparatlösung übereinstimmen. Erst bei einer „Systox“-Konzentration (Wirkstoff), die der Hemmkonzentration im Kressewurzeltest entspricht, ist auch

mg Trockengewicht

100

50

0

24

48

72

96

120

144

0

24

48

72

96

120

132 Std

Abb. 4 Trockengewichtsproduktion von *Ankistrodesmus* in „Schradan“- (links) und „Systox“-Lösungen (rechts), angegeben in mg Trockengewicht/100 ml

— Kontrolle

--- 0,001 % „Schradan“ bzw. 0,0005 % „Systox“ (Wirkstoff)

..... 0,14 % „Schradan“- bzw. 0,005 % „Systox“ (Wirkstoff)

Abszisse: Kulturalter in Stunden. In der ersten Stunde Impfung von 2,0 mg Trockengewicht/180 m Nährlösung

die Trockengewichtsproduktion deutlich gedrückt. Bei *Ankistrodesmus* wie bei der Kressewurzel liegt die Schwelle der Schadkonzentration also nahezu eine ganze Zehnerpotenz höher als bei der empfindlicher reagierenden *Lemna*-Wurzel (s. S. 14). Das „Schradan“-Präparat hemmt die Trockengewichtszunahme erst in etwas höherer Konzentration als „Systox“. Für die praktische Beurteilung ist hier zu berücksichtigen, daß „Schradan“-Mittel auch in der Anwendung höher dosiert werden müssen, da sie ihre insektizide Wirksamkeit erst in höheren Konzentrationen als das „Systox“ voll erreichen. Es ist also zweckmäßig, bei einer Prüfung der beiden Präparate nicht die gleiche Konzentration, sondern Konzentrationen gleicher insektizider Potenz zu vergleichen. „Systox“ wird von der Herstellerfirma gegen Spinnmilben in einer Konzentration von 0,025 % (Wirkstoff) empfohlen. Die Hersteller des angewandten „Schradan“-Präparates empfehlen für ihre Mittel eine Anwendungskonzentration von 0,05 % (Wirkstoff) gegen den gleichen Schädling. Die geprüfte „Schradan“-Konzentration von 0,014 % Wirkstoffgehalt entspricht also in ihrer biologischen Wirksamkeit einer „Systox“-Konzentration von 0,007 % und muß demnach hier auch mit einer derartigen Konzentration verglichen werden.

Wie oben erwähnt, wurden in diesen Versuchen nicht die reinen Wirkstoffe, sondern die Handelspräparate geprüft. Auch hier mußte also wieder zunächst in Vorversuchen festgestellt werden, wieweit der Emulgator das Versuchsergebnis beeinflußt hat. Mehrere Versuche zeigten, daß Kulturen, denen der Emulgator in Konzentrationen von 0,0001—0,007 % zugesetzt worden war, sich in ihrem Verhalten nicht von der Kontrolle unterschieden. Umgekehrt wirkte der Wirkstoff ohne Zugabe von Emulgator nicht anders als bei Zusatz des entsprechenden Emulgator-Anteils.

Tabelle 2. Trockengewichtsproduktion von *Ankistrodesmus* in einer „Systox“- , einer Emulgator- und einer Kontrolllösung ohne Präparat (mg Trockengew. / 100 ml).

Zeitpunkt nach Impfung der Kulturkolben	„Systox“ 0,0005 %	„Systox“ 0,007 %	Emulgator 0,007 %	Kontrolle
84. Std.	24	15	31	29
132. Std.	72	56	78	82

4. Morphologische Veränderungen von *Ankistrodesmus*-Zellen in „Systox“-Lösungen

Bei der Kultur der Algen in der Lösung des Präparats wurde, wie auch bei der sonst üblichen Kultur in Normallösung, die Algensuspension mit einem Luft-CO₂-Gemisch durchblasen. Durch den Luftstrom wurde im Laufe mehrerer Tage eine nicht unerhebliche Menge des Präparates ausgeblasen. Mit Hilfe eines radioaktiv markierten Präparates ließ sich feststellen, daß nach 6 Tagen aus einer 0,0005%igen Lösung etwa die Hälfte des Wirkstoffs und aus einer 0,005%igen Lösung innerhalb der gleichen Zeit etwa $\frac{2}{3}$ des Präparates ausgetrieben worden waren.

Tabelle 3. Veränderung des „Systox“-Gehalts in der Nährlösung bei Durchlüftung der Lösung mit einem Luft-CO₂-Gemisch (5 l/st / 500 ml Lösung, 24°),

	1. Tag	4. Tag	6. Tag
„Systox“-Gehalt in den Kulturlösungen	0,0005 % 0,005 %	0,00032 % 0,00180 %	0,00029 % 0,00105 %

Der Präparatgehalt in der Lösung nimmt also durch das normale Durchlüften der Kulturkolben wesentlich ab, und zwar bei höherer Ausgangskonzentration schneller als bei geringeren Konzentrationen.

Um die Möglichkeit zu schaffen, auch über längere Zeit höhere „Systox“-Konzentrationen auf die Zelle einwirken zu lassen, wurde das Luft-CO₂-Gemisch, das zur Belüftung der Kulturkolben benutzt wurde, zunächst durch 2 Waschflaschen geleitet, die mit einer gesättigten „Systox“-Lösung (ohne Emulgator, einige Tropfen Wirkstoff als Bodenkörper) beschickt waren. Ein Ausblasen des Präparates aus der Kulturlösung war danach nicht mehr zu erwarten.

Inden so behandelten Kulturen war eine Trockengewichtszunahme nicht mehr feststellbar. Wurden die Algen dagegen nach 6 Tagen wieder in frische „Systox“-freie Lösung überführt, zeigte sich bald wieder normales Wachstum.

Verschiedene Einflüsse führen bei *Ankistrodesmus* zu Störungen der Zellteilungsvorgänge. So lassen sich bei Ersatz des Kaliums in der Nährlösung durch Rubidium in den Kulturen stark vergrößerte, abnorm gestaltete Zellen beobachten (Pirson und Kellner). Ähnliche Störungen wurden auch bei Kultur der Algen in Glukose- und Saccharose-Lösungen beobachtet (Chodatt,

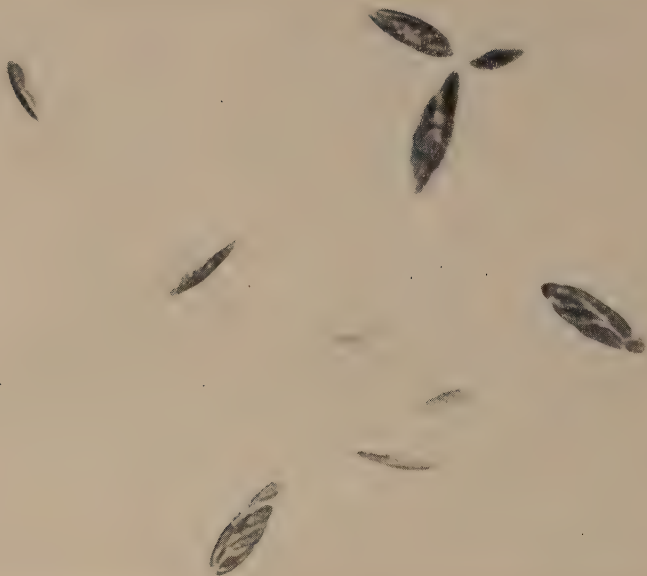


Abb. 5 *Ankistrodesmus* in Normalnährlösung; Teilungsstadien

Anmerkung zu den Aufnahmen:

Objektiv: Leitz, $\frac{1}{12}$ Öl-Imm., 100:1, A:1,30

Okular: Leitz, 10 $\times$, Periplan

Leica: Mikraufsatz $\frac{1}{3}$ $\times$

Filter: BG 34 (Schott und Gen.) Nachvergrößert auf 700 $\times$

Vischer). Keßler (2) fand bei Arbeiten mit *Ankistrodesmus* in sauren Lösungen gleichfalls derartige Riesenformen. Schließlich treten bei überalterten Kulturen gelegentlich abnormale, z. B. dreispitzige Zellen auf. Es lag daher nahe, auch die in der hochprozentigen „Systox“-Lösung offenbar geschädigten Zellen mikroskopisch auf morphologische Veränderungen hin zu überprüfen.

Schon nach 48stündiger Kultur in 0,02%iger Lösung zeigte sich, daß die Zellen gegenüber der Kontrolle deutlich vergrößert erschienen, während die Zellteilung praktisch zum Stillstand gekommen war (Größenmessung mit Hilfe des Zeichenprismas, Auszählung in der Zählkammer nach Thoma). Nach 120 Stunden Kulturdauer hatten die Zellen in der Präparatlösung ein Vielfaches des normalen Volumens erreicht. Im Gegensatz zu den bei Pirson und Kellner abgebildeten „Riesenzellen“ zeigten die hier beobachteten Formen nie eine blasige, zerfließende Umrißform. Gelegentliche Querrückung des Plasmas könnte man als gestörte Teilungen deuten (Abb. 6 und 7).

Oben wurde schon erwähnt, daß die stark geschädigten Kulturen nach Überführen in frische Nährlösung bald wieder normales Wachstum zeigen. Bei der mikroskopischen Überprüfung dieser „rekonvaleszenten“ Kulturen trifft man auf die typischen Riesenformen, die nun in „Systox“-freier Lösung in eine große Zahl von kleinen, ihrem Volumen nach etwa normale Zellen zerfallen

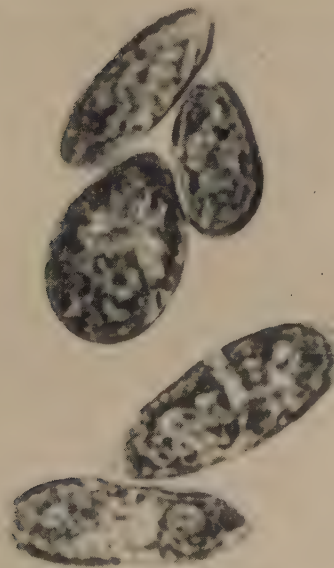
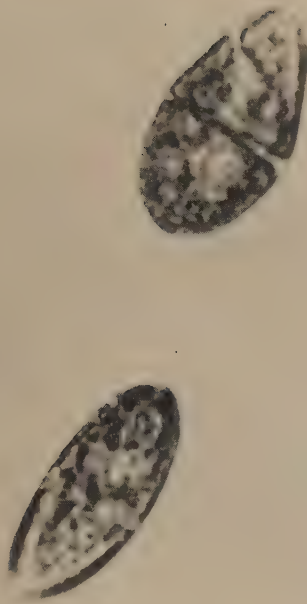


Abb. 6 und 7 *Ankirodesmus*, Zellen 120 Stunden in 0,02%iger „Systox“-Lösung kultiviert
Phototechnische Daten wie bei Abbildung 5

(Abb. 8). Spätere Teilungen dieser normal großen Zellen bieten wieder das für *Ankistrodesmus* typische Zellteilungsbild (Abb. 5). Zellen dieser Herkunft wurden über mehrere Wochen in Nährlösungskultur weitergeführt, ohne daß dabei in ihrem Verhalten irgendwelche Abnormalitäten aufgetreten wären.

Die Schädigung führt hier anscheinend über eine Stilllegung der normalen Zellteilungsvorgänge bei Fortdauer eines allerdings gehemmten Plasmawuchses zu den abgebildeten Riesenzellen. Die Schädigung ist aber so wenig tiefgreifend

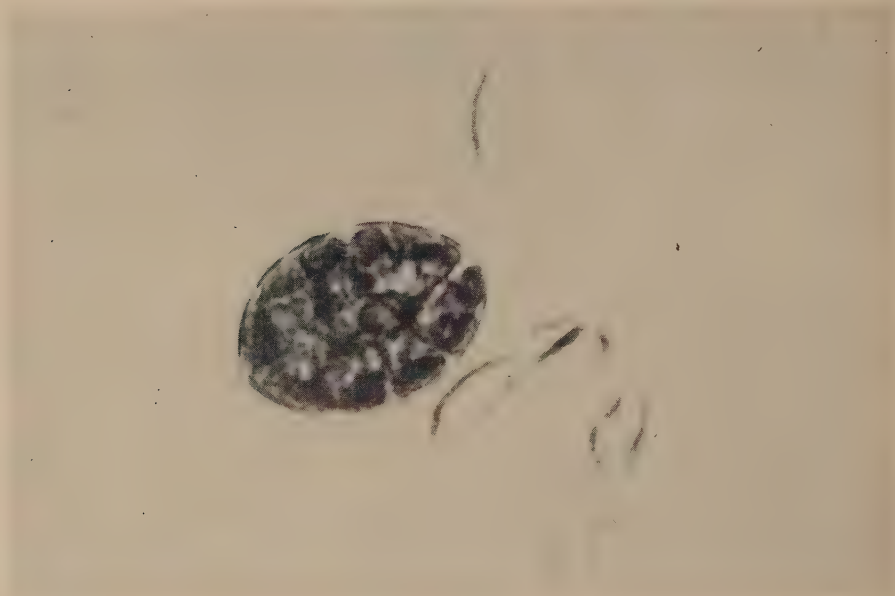


Abb. 8 *Ankistrodesmus*, Teilungsstadien, Zellen aus einer „Systox“-Kultur (0,02%), 3 Tage nach Überführen in „Systox“-freie Nährlösung
Phototechnische Daten wie bei Abbildung 5

und so weit reversibel, daß die Zellen der folgenden Generation sich wieder weitgehend normal verhalten.

Das Auftreten von Riesenzellen bei *Ankistrodesmus* ist zwar als eine recht unspezifische und allgemeine Reaktion anzusehen, doch sei hier auf die Koinzidenz dieser Ergebnisse mit den an der *Lemna*-Wurzel gewonnenen Befunden hingewiesen. In beiden Fällen war zunächst nicht so sehr das Plasma-Wachstum wie die Zellteilung gestört worden.

B. „Systox“-Konzentrationen in fettarmen und fettspeichernden Algen

In allen bisherigen Versuchen war die Konzentration der angewandten Lösungen immer als ein Maßstab für die physiologisch wirksam werdenden „Systox“-Konzentrationen angesehen worden. Um eine gewisse Vorstellung von den „Systox“-Mengen zu gewinnen, die in den vorliegenden Versuchen tatsäch-

lich in den Zellen vorhanden sind, wurde in einigen Fällen der Gehalt der Algen an „Systox“ (bzw. an ^{32}P) unter Benutzung eines mit ^{32}P markierten Präparates bestimmt.

Will man die Aktivität eines pflanzlichen Gewebes zuverlässig messen, ist es notwendig, das Untersuchungsmaterial nach einem Verfahren in Lösung zu bringen, das möglichst keine meßbaren Mengen des markierten Atoms in Verlust geraten läßt. Man bedient sich hier der sog. flüssigen Veraschung mit konzentrierter Schwefelsäure und Perhydrol (s. dazu auch Tietz).

In einem feuerfesten Zentrifugenglas wird eine genau bestimmte Menge der abzentrifugierten Zellen mit etwa 6 ml konz. H_2SO_4 übergossen. Auf dem Sandband wird dann das Glas so weit erhitzt, daß sich die Algen ganz auflösen und eine einheitliche braunschwarze Flüssigkeit ohne Bodenkörper entsteht. Der so nach Einwirkung der Schwefelsäure zurückbleibende Kohlenstoff wird anschließend durch Zugabe von 2–3 ml Perhydrol oxydiert. Die Lösung ist dann wasserklar. Schließlich wird mit Aqua dest. auf 10 ml aufgefüllt.

Jede der so gewonnenen Veraschungsproben enthielt etwa 50 mg Algen-Trockengewichtssubstanz. Nach der Messung dieser Proben wurden durch Vergleich mit Standardmessungen der Absolutgehalt der Zellen an „Systox“ pro Einheit Trockengewicht ermittelt.

a) Versuche mit Normalzellen

Ankistrodesmus-Zellen wurden zunächst für drei Stunden in eine 0,01%ige „Systox“-Lösung überführt. Die Zellen wurden dann anschließend dreimal mit destilliertem Wasser ausgewaschen um evtl. Reste des Präparates, die zwischen den abzentrifugierten Algen oder an ihrer Oberfläche haften, zu entfernen. Ein Teil dieser Zellen (Tab. 4 A) wurde anschließend unmittelbar nach dem Waschen flüssig verascht und der Gehalt an ^{32}P bestimmt.

Eine andere Probe (B) wurde nach dem Waschen in eine „Systox“-freie Nährlösung überführt und darin fünf Stunden lang durchgeschüttelt. Anschließend wurde auch der Gehalt dieser Zellen an markiertem Phosphor festgestellt. Neben der Veraschungslösung wurde ferner auch die ursprünglich präparatfreie Nährlösung gemessen, aus der die Algen der Probe B abzentrifugiert worden waren. Damit sollten die Ergebnisse, die an der Probe B gewonnen worden waren, bestätigt werden. Die Tabelle 4 gibt einen Überblick über diese Versuche.

Tabelle 4. „Systox“-Gehalt von *Ankistrodesmus*-Zellen nach 6stündigem Aufenthalt in 0,01%iger Emulsion des Präparates.

A	B	C
Algen (100 mg Trockengewicht) dreimal in „Systox“-freier Lösung ausgewaschen	Algen (100 mg Trockengewicht) dreimal in „Systox“-freier Lösung ausgewaschen, anschl. 5 Stunden in „Systox“-freier Lösung durchgeschüttelt (20 ml)	Lösung, aus der in Versuch B nach 5 Std. Schütteln das Algenmaterial abzentrifugiert wurde
0,453	0,224	0,136
0,450	0,272	

Zahlenangaben: mg „Systox“ / 100 mg Trockengewicht

mg „Systox“ / 20 ml Lösung

Beim dreimaligen Abzentrifugieren und Auswaschen der Algen geht sicherlich schon ein nennenswerter Anteil des „Systox“ aus den Zellen verloren. Die tatsächlich in den Zellen vorhandene „Systox“-Menge dürfte also noch über den in Tabelle 4 A angegebenen Werten liegen. Auf das vorhergehende gründliche Auswaschen kann jedoch verständlicherweise nicht verzichtet werden.

Ein Vergleich der Gruppen A und B zeigt, daß innerhalb von 5 Stunden rund $\frac{1}{3}$ des in den Zellen lagernden Präparates in die „Systox“-freie Versuchslösung abgegeben wurde. Dieser Anteil findet sich größtenteils in der Versuchslösung wieder (Spalte C). Der geringe Fehlbetrag ist wohl außer durch Meßfehler auch dadurch zu erklären, daß ein kleiner Anteil des Präparates aus der Lösung in den Gasraum des Reaktionsgefäßes abgegeben wurde bzw. am Glas der Gefäße haften blieb. Weiter unten sollen die hier aufgeführten Befunde zur Deutung einiger Versuchsergebnisse herangezogen werden (s. S. 33).



Abb. 9 *Ankistrodesmus*, Normalzellen

b) Versuche mit fettspeichernden N-Mangelzellen

Kultiviert man *Ankistrodesmus* in einer Nährlösung, in der nur $\frac{1}{5}$ der normalerweise gegebenen Stickstoffmenge vorhanden ist (das fehlende KNO_3 ist osmotisch durch KCl kompensiert), so bildet sich nach zunächst gutem Anwachsen der Kultur bald das Chlorophyll zurück. Nach einigen Wochen stellt man bei mikroskopischer Prüfung fest, daß die Zellen, die etwas größer als Normalzellen (Abb. 9) sind, vollgestopft sind mit kleinen Tröpfchen (Abb. 10).

Diese Tröpfchen sind durch Anfärben mit „Sudan III“ (§ 1045) leicht als Fetttröpfchen zu identifizieren. Die Algen sind in diesem Zustand sehr widerstandsfähig und haben ihren Stoffwechsel weitgehend eingeschränkt (Brügge-
mann). Sie sind durch sekundär auftretende Karotinoide orangegelb gefärbt. Daß derartige Zellen jedoch nicht wesentlich geschädigt sind, geht aus der Tatsache hervor, daß sie nach Zusatz verschiedenster Stickstoffquellen (NH_4Cl , NaNO_3 , NaNO_2) schon innerhalb von zwei Tagen wieder ergrünen (Kessler).

Es bietet sich also die Möglichkeit, vergleichend zu den auf S. 21 beschriebenen Versuchen das Eindringen von „Systox“ in *Ankistrodesmus*-Zellen und das Auswaschen des Präparates aus diesen Zellen an stark fettspeichernden Algen zu untersuchen, die im übrigen aber den Objekten des Versuchs von S. 21 entsprechen.



Abb. 10 *Ankistrodesmus* N-Mangelzellen. — Phototechnische Daten wie bei Abb. 5

Stark mit Fetttröpfchen beladene Stickstoffmangelzellen (Abb. 10, 3 Monate im Stickstoffmangel) waren in gleicher Weise wie die Zellen des in Tabelle 4 wiedergegebenen Versuchs vorbehandelt worden. Partie A wurde nach dreimaligem Abzentrifugieren und Auswaschen des Präparates verascht (s. S. 21), Probe B dagegen wurde wie im Versuch Tabelle 4 nach dreimaligem Auswaschen in „Systox“-freie Nährlösung überführt und dann in dieser Lösung über 5 Stunden durchgeschüttelt. Anschließend wurde auch diese Probe in der üblichen Weise flüssig verascht. Die Ergebnisse der beiden Parallelversuche sind in Tabelle 5 wiedergegeben.

Tabelle 5. „Systox“-Gehalt von *Ankistrodesmus*-Normalzellen und von fett-speichernden N-Mangelalgen nach dreistündigem Aufenthalt in 0,01%iger „Systox“-Emulsion.

A		B	
Algen 100 mg Trockengewicht, dreimal in „Systox“-freier Lösung ausgewaschen		Algen, 100 mg Trockengewicht, dreimal in „Systox“-freier Lösung ausgewaschen, anschl. 5 Std. in „Systox“-freier Lösung geschüttelt	
Normalzellen	N-Mangelzellen	Normalzellen	N-Mangelzellen
0,453	0,700	0,294	0,634
0,450	0,770	0,272	0,604

Zahlenangaben mg „Systox“ / 100 mg Trockengewicht

Zunächst wird offenbar von den fettreichen N-Mangelzellen mehr Präparat aufgenommen als von den Normalzellen. Die fettspeichernden Zellen enthalten über 50 % mehr ^{32}P als die fettfreien Algen, und bei weiterem Auswaschen verstärkt sich der Unterschied noch wesentlich. Nach 5stündigem Aufenthalt in „Systox“-freier Nährlösung ist in den Normalzellen, im Gegensatz zu den Mangelzellen, der ^{32}P -Gehalt so stark abgesunken, daß die fettreichen Zellen jetzt noch 100 % mehr markierte Substanz enthalten als die Normalalgen. Mit Wasser läßt sich also das Präparat wesentlich schlechter aus den Fettzellen herauswaschen als aus normalen Zellen.

Trotz dieser auffälligen Unterschiede ist es bei Berücksichtigung der stark lipophilen, unpolaren Natur des „Systox“ (Schrad er) erstaunlich, daß diese Differenzen nicht noch stärker hervortreten. Man sollte erwarten, daß man das Präparat mit den dicht mit Fett angefüllten Algen ähnlich wie mit einem organischen Lösungsmittel ausschütteln könnte. Die Tatsache, daß hier vielmehr nur ein begrenzter Prozentsatz des Präparates von den Fettalgen aufgenommen wird, könnte man als Hinweis dafür ansehen, daß die Grenzschichten der lebenden Zelle bei Eintritt des Präparates eine gewisse Rolle spielen und daß es sich beim Eintritt des „Systox“-Moleküls in die Zelle nicht um ein bloßes Hineinschwemmen des Esters handelt. Gegen ein rein passives Verhalten der Zellen beim Eindringen systemisch wirkender Präparate sprechen auch einige andere Ergebnisse. So wurde beobachtet, daß sowohl „Systox“ (Tietz) wie auch „Schradan“ (David) u. U. von der Wurzel wieder in die gleiche Lösung abgegeben, rekretiert werden kann, aus der das Präparat zunächst aufgenommen wurde. Als Erklärung für diese Befunde ließe sich allerdings auch eine Veränderung der Adsorptions- und Permeabilitätsverhältnisse in der Zelle bzw. in den Membranen unter Einwirkung der Präparate annehmen oder gewisse Umlagerungen im Wirkstoffmolekül, die eine Veränderung der Lösungs- oder Adsorptionseigenschaften des Präparates zur Folge haben.

C. Atmungsmessungen

Die Ergebnisse der hier bisher mitgeteilten Versuche an Algen in Lösungen verschiedener „Systox“-Konzentrationen weisen darauf hin, daß das Präparat in Konzentrationsbereichen über 0,005 % Wirkstoffgehalt in irgendeiner Weise die Stoffwechselbilanz dieser Objekte beeinflußt. Um diese Wirkungen etwas

näher zu analysieren, wurde die respiratorische O₂-Aufnahme von *Ankistrodesmus falcatus* in Normalnährlösung bei Gegenwart von „Systox“ in verschiedenen Konzentrationen bestimmt.

1. Atmung in „Systox“-Konzentrationen von 0,0001—0,01 %

Zunächst wurden orientierend Lösungen mit niedrigem Präparatgehalt geprüft. Konzentrationen von 0,0001—0,004 % Wirkstoffgehalt kamen dabei zur Anwendung. Es wurde zu diesen Versuchen das Handelspräparat*, also 50 % Emulgator herangezogen. Auch hier war wie bei den früheren Versuchen sichergestellt worden, daß der reine Emulgator keine evtl. störenden Effekte hervorruft.

Tabelle 6. Respiratorischer O₂-Verbrauch von *Ankistrodesmus* in Lösungen mit einem „Systox“-Gehalt von 0,0001—0,004 % Wirkstoff. Direkte KOH-Methode.

Präparatgehalt der Lösung	0,0001	0,0005	0,001	0,004
Atmung über 3 Std.	2,4	3,1	2,4	2,8 + Präparat
— mm ³ O ₂ /mg/h	2,5	3,2	2,4	2,5 Kontrolle

Die Versuche sind nicht gleichzeitig durchgeführt worden, daher ist zu jeder Konzentration ein besonderer Kontrollwert angegeben. Die höhere Atmung der Algen im zweiten Versuch ist dadurch zu erklären, daß hier eine um 2 Tage jüngere Suspension benutzt wurde.

Bei einem „Systox“-Gehalt von 0,004 % war in insgesamt vier Versuchen die Atmung gegenüber der Kontrolle gesteigert. Die Steigerung war aber stets noch sehr gering und nicht zu sichern. In allen anderen Fällen, bei Konzentrationen unterhalb 0,004 % Wirkstoffgehalt, zeigte der respiratorische O₂-Verbrauch im Vergleich zur Kontrolle weder eine Steigerung noch eine Depression.

Die schwache Steigerung der Atmung in 0,004%iger „Systox“-Lösung ließ eine Prüfung höherer Konzentrationen wünschenswert erscheinen. Im Kressewurztest wie auch bei den Trockengewichtsbestimmungen lag, wie bereits oben erwähnt wurde, der Schwellenwert für eine schwache Störung in diesem Bereich.

Die stark unterschiedliche Wasserlöslichkeit wie auch gewisse Unterschiede in der tierphysiologischen Wirksamkeit, die die beiden im „Systox“ vorliegenden Isomeren aufweisen, ließen es geraten erscheinen, auch in weiteren pflanzenphysiologischen Versuchen beide Isomeren getrennt zu prüfen.

Abbildung 11 gibt als Maß für die Atmungsintensität einen Überblick über den respiratorischen Sauerstoffverbrauch von *Ankistrodesmus* in 0,01%iger „Systox“-Lösung. Nebeneinander wurde hier die Wirksamkeit der reinen P=S- und reinen P=O-Verbindung untersucht. Unmittelbar nach Zugabe der P=S-Verbindung steigt hier die Atmung der Algen auf einen Wert, der fast 100 % über dem vergleichbaren Wert der Kontrolle liegt. Der schnelle Anstieg ist besonders erstaunlich, handelt es sich bei dem recht schwer wasserlöslichen

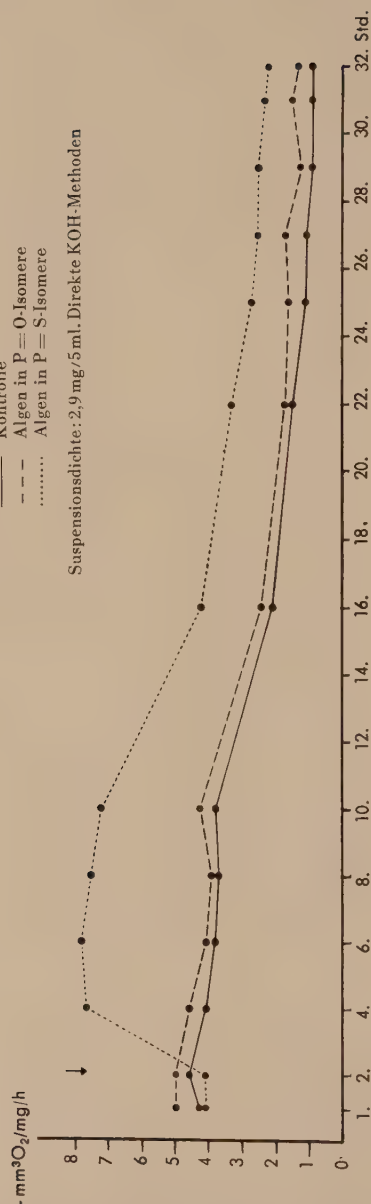
* In allen weiteren Versuchen mit „Handelspräparat“ wurde immer wieder die gleiche Fabrikationspartie benutzt.

Abb. 11

Ankistrodesmus, respiratorischer O_2 -Verbrauch nach Zugabe von 0,01 % „Systox“ (+ Emulgator) Zugabe nach der 2. Stunde (Pfeil)

— Kontrolle
 - - - Algen in P = O-Isomere
 Algen in P = S-Isomere

Suspensionsdichte: 2,9 mg/5 ml. Direkte KOH-Methoden



Wirkstoff doch um ein relativ großes und sperriges Molekül. Das Präparat hat offenbar die Fähigkeit, sehr schnell an den Wirkungsort in der Zelle vorzudringen. Man könnte hier an einen Wirkungsmechanismus denken, der in den lipophilen Strukturen der Zellgrenzflächen lokalisiert ist.

Auffallend ist weiterhin, daß die chemisch so außerordentlich nah verwandte $P=O$ -Verbindung im Gegensatz zur $P=S$ -Komponente den O_2 -Verbrauch in keiner Weise beeinflußt. Allerdings hat sich nach etwa 25 Stunden die relative Differenz zwischen O_2 -Verbrauch in der Kontrolle und in $P=O$ -Lösung vergrößert, während die Differenz zwischen $P=S$ -Isomere und Kontrolle relativ etwa gleich geblieben ist. Da aber nach allmählichem Verbrauch des Atmungsmaterials die Atmung hier auf einen recht niedrigen Endwert abgesunken ist, büßen die Meßwerte an Genauigkeit ein. Die Differenzen lassen sich damit nur noch schwer sichern.

Arbeiten von Gaffron und von Kessler (2) an verschiedenen Einzellern hatten gezeigt, wie unterschiedlich gelegentlich auch recht nah verwandte Formen reagieren. An einem Objekt gewonnene Erfahrungen lassen daher keine Verallgemeinerung auch nur innerhalb kleiner systematischer Einheiten zu.

Um die hier gewonnenen Ergebnisse auf eine etwas breitere Basis zu stellen, wurde daher zunächst vergleichend zu *Ankistrodesmus* das Verhalten der *Chlorella* „11 h“ untersucht. Diese Versuche ergaben grundsätzlich ähnliche Ergebnisse wie der Versuch der Abbildung 11. Weiter unten (Abb. 18) soll noch näher auf das Verhalten der *Chlorella* unter Einfluß des Präparates eingegangen werden. Um die Arbeiten nicht auf Einzeller und Algen zu beschränken, wurde als einfach organisierte Monokotyle *Helodea canadensis* zu den Versuchen herangezogen. *Helodea* ist hier aus methodischen Gründen besonders geeignet.*

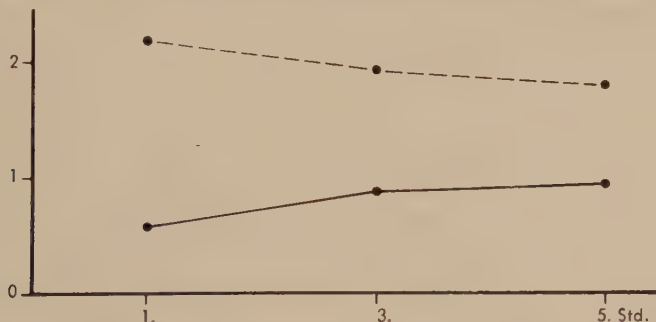


Abb. 12 *Helodea canadensis*, respiratorischer O_2 -Verbrauch in 0,02%iger „Systox“-Lösung (+ Emulgator), $P=S$ -Isomere. Eine Stunde vor Beginn der Messung in Versuchslösung überführt

— Kontrolle
 - - - Blätter in „Systox“-Lösung, Direkte KOH-Methode

Die Abbildung 12 zeigt, daß bei *Helodea* die Steigerung des respiratorischen O_2 -Verbrauchs nach Anwendung des Präparates in ähnlichem Umfang auftritt, wie bei den übrigen Objekten. Allerdings scheint *Helodea* etwas weniger empfindlich zu sein als die untersuchten Einzeller. Während bei den Algen in allen Fällen schon bei 0,007 % eine etwa 40—70%ige Steigerung auftrat, reagierte *Helodea* bei dieser Konzentration noch nicht deutlich. Eine gewisse Erklärung dafür gibt schon die Tatsache, daß sich das Präparat sehr hartnäckig an Oberflächen festsetzt und sich daher weit schneller und stärker an die Einzeller mit

* So benutzte z. B. auch Gassner *Helodea*, um pflanzenphysiologische Effekte einiger systemisch wirkender Urethanderivate zu untersuchen.

ihren relativ großen Oberflächen anzulagern vermag. Die reine $P=O$ -Verbindung hatte auch bei *Helodea* keinen Einfluß auf die Höhe des respiratorischen O_2 -Verbrauchs.

2. Wirkung einiger dem „Systox“ verwandter Stoffe

Die in allen bisherigen Versuchen auffallende unterschiedliche Wirkung der beiden isomeren Substanzen könnte mit der sehr stark unterschiedlichen Wasserlöslichkeit der beiden Präparate in Zusammenhang stehen. Daneben wäre auch an eine spezifische Wirksamkeit der Phosphor-Schwefel-Doppelbindung zusammen mit dem übrigen Molekül zu denken. Die Verhältnisse lägen dann hier genau umgekehrt wie im Tierversuch, wo sich bei „Systox“, „E 605“ und anderen Estern dieser Gruppe die $P=O$ -Isomere stets deutlich stärker toxisch erwiesen hatte als die entsprechende $P=S$ -Verbindung. (Hecht und Wirth).

Wenn sich herausstellen würde, daß die beiden „Systox“-Isomeren tatsächlich in der Pflanze eine so stark unterschiedliche Wirksamkeit auf den respiratorischen Gaswechsel zeigen wie es nach den bisherigen Versuchen den Anschein hat, dann wäre es u. U. möglich, durch fortlaufende Beobachtung der Atmung die Beständigkeit und Lebensdauer der $P=S$ -Isomere in der lebenden Pflanze zu bestimmen. Es muß also genauer geklärt werden, durch welche Faktoren in den angewandten Präparaten in den vorliegenden Versuchen die Atmungssteigerung bedingt ist.

Um diesen Fragen weiter nachzugehen, sollte die Wirkung verschiedener dem „Systox“ ähnlich gebauter Körper untersucht werden, die gleichfalls als $P=S$ - und als $P=O$ -Verbindung getrennt vorlagen.

In einer ersten Versuchsreihe wurden die Algen in eine 0,008%ige Emulsion des Triäthylphosphats bzw. des Triäthylthiophosphats gebracht. Die Stoffe sind so schwer wasserlöslich, daß diese Konzentrationen nur als Emulsionen anwendbar waren. Es stellte sich heraus, daß in keinem der beiden Fälle die Atmung bzw. der respiratorische O_2 -Verbrauch in irgendeiner Weise beeinflusst wurde.

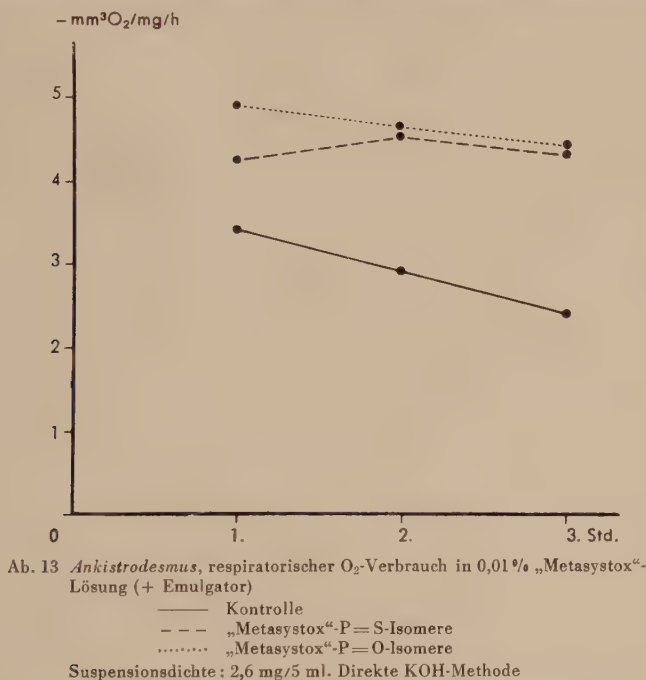
Da diesen beiden Verbindungen der für das „Systox“ so charakteristische Thioäther-Rest fehlt, wurden zu weiteren Versuchen die dem „Systox“ entsprechenden Dimethylester herangezogen.

Es wäre zu erwarten, daß eine evtl. spezifische Wirkung der $P=S$ -Konfiguration auch hier hervortreten würde. Wie aus Abb. 13 ersichtlich ist, wird durch Zusatz von Methylsystox die Atmung bei *Ankistrodesmus* in etwa gleichem Umfang gesteigert wie bei Zusatz der entsprechenden „Systox“-Konzentration. Zum Unterschied von „Systox“ steigt hier aber der O_2 -Verbrauch nicht nur in Lösung bzw. Emulsion der $P=S$ -Verbindung*, sondern in gleicher Weise auch bei Gegenwart der $P=O$ -Isomere. Wollte man an einen mehr oder weniger spezifischen Unterschied in der Wirkung der $P=S$ - und $P=O$ -Isomere des „Systox“ denken, dann müßte man annehmen, daß der bloße Austausch der beiden Äthylgruppen durch Methylreste hier der bislang unwirksamen $P=O$ -Verbindung eine atmungssteigernde Wirkung gegeben hätte, ohne gleichzeitig die Wirksamkeit der $P=S$ -Verbindung irgendwie zu beeinflussen. Eine derartige Annahme ist von vornherein recht unwahrscheinlich. Weit eher wäre denkbar, daß die nach einem etwas abweichenden Syntheseverfahren hergestellten Methylester ähnlich wie der $P=S$ -Diäthylester gewisse Verunreinigungen,

* $P=S$ -Methyl-„Systox“ hatte im vorliegenden Fall eine Beimischung von 6% der $P=O$ -Verbindung.

Umlagerungs- oder Nebenprodukte führen, die der $P=O$ -Verbindung fehlen und die für den Anstieg des O_2 -Verbrauchs verantwortlich zu machen wären.

Als Nebenbestandteile des „Systox“ kommen insbesondere die beiden „Tri-Ester“, das Triäthylphosphat und das Triäthylthiophosphat in Betracht (mdl. Mittl. Dr. Schraders). Wie die oben erwähnten Versuche zeigen, beeinflussen diese beiden Stoffe den Gaswechsel nicht einmal in einer Konzentration, die der „Systox“-Gesamtkonzentration entspricht. Bei den weit niedrigeren Konzentrationen, in denen diese Verbindung als Beimischungen des



Gesamtpräparates vorliegen, ist daher an eine atmungssteigernde Wirkung keinesfalls zu denken.

Neben den Beimengungen der Tri-Ester kommt als Umlagerungsprodukt* in den Lösungen der $P=S$ -Verbindungen in höherem Prozentsatz die $P=O$ -Isomere vor. Die energiereichere und weniger stabile $P=S$ -Isomere geht in Lösung innerhalb einiger Tage in gewissem Umfang in die energieärmere, stabilere $P=O$ -Form über. Man könnte also erwarten, daß die $P=S$ -Verbindung in einer Lösung im Laufe mehrerer Tage immer mehr von ihrer steigernden Wirkung auf die Atmung einbüßt, während eine Lösung der $P=O$ -Verbindung unwirksam bleibt.

* Während der Drucklegung wurden dem Verf. die Ergebnisse neuerer Arbeiten von Metcalf und Mitarb. bekannt, die im Jahre 1955 im Journ. Econ. Ent. veröffentlicht werden sollen. Danach liegen in „Systox“-Lösungen als Umlagerungsprodukte die Phosphat-Sulfoxide und -Sulfone bzw. die entsprechenden Thiophosphat-Verbindungen vor. Zur Klärung der hier diskutierten Probleme müßte man also auch derartige Substanzen in die Untersuchungen einbeziehen.

In den folgenden Versuchen wurden daher neben frischen Lösungen auch Lösungen bzw. Emulsionen der beiden Isomeren geprüft, die bis zu 120 Stunden als 0,01%ige Lösung bei Zimmertemperatur gestanden hatten (pH 6,2). Analytische Verfahren erbringen den Nachweis, daß in Lösungen diesen Alters zu hohem Prozentsatz die P=S-Form in die Thiol-Verbindung umgelagert ist (mdl. Mittl. Dr. Schrader). Die atmungssteigernde Wirkung ist hier noch weitgehend erhalten geblieben und entspricht der Wirkung einer frisch angesetzten Lösung. Mit einer Umlagerung der P=S- in die P=O-Form ist also kein nennenswerter Rückgang der atmungsbeeinflussenden Wirkung verbunden.

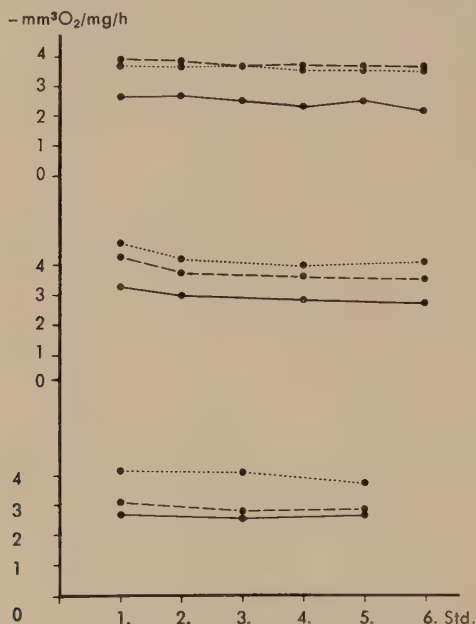


Abb. 14 *Ankistrodesmus*, respiratorischer O₂-Verbrauch in 0,0065 %igen „Systox“-Lösungen verschiedenen Alters

Alter der Lösungen jeweils bei Versuchsbeginn:

Oben: 35 Std., Mitte: 25 Std., Unten: 1 Std.

— Kontrolle

- - - Algen in „Systox“-P=O-Lösung

..... Algen in „Systox“-P=S-Lösung

Suspensionsdichte: 2,2 mg/5 ml. Direkte KOH-Methode

Im Versuch der Abb. 14 sind die Algen in P=S- wie in P=O-Lösung verschiedenen Alters gebracht worden. In diesen Versuchen bleibt über 40 Stunden die Wirkung der P=S-Verbindung ungeschwächt erhalten. Schon nach 22 Stunden aber zeigt sich deutlich, daß auch die Algen in Emulsion der P=O-Isomere einen merklich höheren O₂-Verbrauch haben als die Zellen in der Kontrolllösung. Nach etwa 35 Stunden liegt der respiratorische O₂-Verbrauch in den Emulsionen der P=S- und der P=O-Form gleich hoch über der Kontrolle. Dieses Ergebnis entspricht weitgehend dem Kurvenverlauf im Versuch der

Abb. 9. Hier waren nach etwa 25 Stunden gleiche Unterschiede zwischen Atmung der Kontrolle und Atmung in P=O-Isomere aufgetreten, ohne daß man hier bei den niedrigen Absolutwerten der Atmung sichere Aussagen hätte machen können.

War es oben nicht möglich, eine bestimmte Konfiguration im Molekül der P=S-Verbindung für den atmungssteigernden Effekt verantwortlich zu machen, so wird es nach dem letzten Versuch (Abb. 14) mehr und mehr wahrscheinlich, daß die Atmungssteigerung auf Umlagerungs- oder Nebenprodukte zurückgeführt werden kann. Denkbar wäre, daß eine Substanz, die nur in geringem Maße auf die Atmung wirkt, erst „synergistisch“, bei Gegenwart einer u. U. geringen Menge einer weiteren Verbindung, den Effekt in voller Höhe hervorzurufen vermag. Derartige Synergismen und Aktivatorwirkungen sind beim tierphysiologischen Verhalten von Insektiziden nicht unbekannt und gelegentlich nicht ohne Bedeutung (Cox, Incho und Greenby, Mayer und Mitarb. u. a.). Schließlich könnte man auch annehmen, daß die Unterschiede in der physiologischen Wirkung auf einen unterschiedlichen Verteilungszustand der beiden emulgierten Substanzen zurückzuführen sind. Man müßte dann voraussetzen, daß die Emulsionen, bedingt durch die stark unterschiedliche Löslichkeit der Isomeren u. U. in verschiedenem Maße altern und daher sich die Adsorptionsvorgänge in den beiden Emulsionen in verschiedener Weise ändern.

Nach unseren Erfahrungen bietet die zuerst erwähnte Annahme gewisser Umlagerungserscheinungen die zwanglosere Erklärungsmöglichkeit für die hier diskutierten Effekte. Bei der Annahme von Umlagerungserscheinungen handelt es sich nicht um eine ad hoc herangezogene Hypothese, vielmehr liefern eine Reihe anderer Ergebnisse ähnliche Hinweise (s. S. 55).

3. CO₂-Abgabe bei Gegenwart höherer „Systox“-Konzentrationen

Bei den bisherigen manometrischen Versuchen hatte sich herausgestellt, daß der O₂-Verbrauch durch „Systox“ gesteigert wird. Der O₂-Verbrauch ist dabei bisher immer als ein zuverlässiges Maß für die Atmungsintensität angesehen worden. Es läßt sich jedoch nicht mit Gewißheit ausschließen, daß der erhöhte O₂-Verbrauch eine Anregung anderer oxydativer Prozesse in der untersuchten Kultur anzeigt.

Vor allem hat man hier an oxydative Prozesse zu denken, die bei einer möglichen subletalen Schädigung der Zellen ablaufen.

Um die Möglichkeit zu haben, die Steigerung des O₂-Verbrauchs als echte Atmungssteigerung sicherzustellen, wurde neben dem O₂-Verbrauch auch die CO₂-Abgabe bestimmt. In den folgenden Versuchen wurde zu diesem Zweck die im methodischen Teil und im Formelanhang erwähnte $\pm$ KOH-Methode angewandt.

In einer Reihe von Versuchen, die sich wie Versuch 15 verhielten, konnte gezeigt werden, daß mit einer Steigerung des O₂-Verbrauchs in dem hier vorliegenden Fall immer auch eine entsprechende Steigerung der CO₂-Abgabe verbunden ist. Es handelt sich hier also um eine echte Steigerung der Kohlenhydratveratmung. Weiter unten sollen diese Versuche in anderem Zusammenhang noch eingehender besprochen werden (s. S. 45).

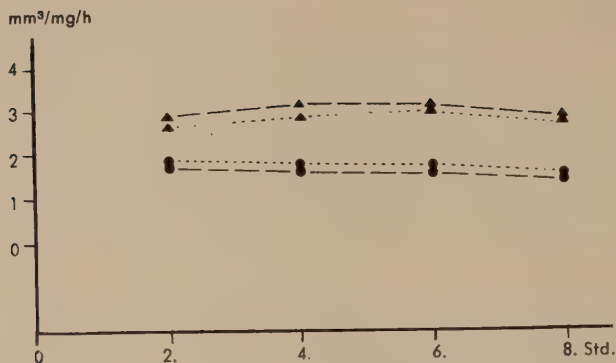


Abb. 15 *Ankistrodesmus*, O₂-Aufnahme und CO₂-Abgabe in Nährlösung 0,01% „Systox“-Gehalt
 ● ● Kontrolle
 ▲ ▲ Algen in „Systox“-Lösung
 - - - O₂-Aufnahme
 CO₂-Abgabe
 Suspensionsdichte: 14,0 mg/6 ml, Kulturalter 9 Tage, ± KOH-Methode

4. Reversibilität der Atmungssteigerung

Stärkere langdauernde Atmungssteigerungen sind, soweit sie nicht mit einer gleichzeitigen Förderung der Synthesevorgänge gekoppelt sind, normalerweise für die Praxis unerwünschte Effekte. Wenn in unserem Falle bei einer Überdosierung des Präparates eine Atmungssteigerung auftritt, dann ist es wichtig zu wissen, ob bei einer Verdünnung, bei Auswaschen oder beim Abtransport des Präparates mit einer baldigen Normalisierung der respiratorischen Vorgänge zu rechnen ist. Es war daher zu prüfen, ob und in welchem Umfang der hier beobachtete Anstieg der Atmung reversibel ist.

Die Algen einer 7 Tage alten Suspension wurden in der üblichen Weise in eine Nährlösung mit 0,01 % „Systox“-Gehalt überführt. Die für den Kontrollversuch benötigten Algen kamen gleichzeitig in frische, präparatfreie Nährlösung. In diesen Lösungen verblieben die Zellen für 5 Stunden. Während dieser Zeit wurden die Kulturen in der üblichen Weise in den Kulturkolben durchgeschüttelt und mit etwa 800 Lux belichtet. Eine derartige Vorbelichtung ist wünschenswert, da sich die Algen sonst schon bald nach Beginn der anschließenden manometrischen Messungen im Hungerzustand befinden und die Absolutwerte der Atmung dann recht niedrig liegen.

Nach fünfstündigem Aufenthalt der Zellen in „Systox“-Lösung wurde die eine Hälfte der Suspension dreimal in der Zentrifuge mit „Systox“-freier Nährlösung ausgewaschen und dann schließlich in frische „Systox“-freie Nährlösung überführt (2). Die andere Hälfte wurde gleichfalls dreimal abzentrifugiert, aber immer wieder in „Systox“-Lösung gebracht (1). In entsprechender Weise wurden die Kontrollen behandelt und jeweils in frische Nährlösung ohne Präparat übertragen (3). Im Anschluß an diese Vorbehandlung wurde die Atmung der drei Suspensionen nach der KOH-Methode bestimmt. Die Abb. 16 gibt einen Überblick über die Ergebnisse dieses Versuchs.

Während in den ersten beiden Stunden die Atmung von Suspension 1 und 2 praktisch noch gleich hoch liegt, ist nach der 4. Stunde die Atmungssteigerung in Suspension 2 gegenüber 1 schon schwach zurückgegangen. Nach 9 Stunden zeigt die Suspension, aus der das Präparat ausgewaschen wurde, eine um etwa

50 % geringere Atmungssteigerung als die Algen, die in „Systox“-Lösung weitergeführt wurden. Nach 13 Stunden läßt sich für Suspension 2 die Atmungssteigerung nicht mehr mit Sicherheit nachweisen. Aus dem Versuch der Abb. 16 ist demnach zu erkennen, daß nach Auswaschen des Präparates aus den Algen die Atmungssteigerung zurückgeht.

Aus den auf Seite 22 besprochenen „Systox“-Bestimmungen mit Hilfe eines mit ^{32}P markierten Präparates geht hervor, daß nach fünfstündigem Aufenthalt der Algen in „Systox“-freier Lösung, entsprechend also nach fünfstündiger Dauer der manometrischen Messung, noch mehr als die Hälfte des zu Anfang des Versuchs nachgewiesenen ^{32}P in den Zellen vorhanden ist. Das nur zögernde Nachlassen der Atmungssteigerung entspricht also dem nur langsamen Verschwinden des markierten Atoms aus den Algen. Hier ist zu berücksichtigen,

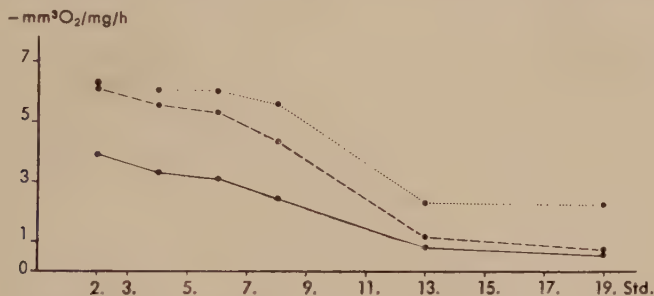


Abb. 16 *Ankistrodesmus*. Reversibilität der durch „Systox“ hervorgerufenen Atmungssteigerung
 Algen seit 5 Std. in „Systox“-Lösung, weiter in „Systox“-Lösung Konzentration der angewandten Lösung 0,01 % P=S-Isomere, Suspensionsdichte: 7 mg/8 ml. Direkte KOH-Methode
 --- Algen seit 5 Stunden in „Systox“-Lösung, „Systox“ ausgewaschen, weiter in „Systox“-freier Versuchslösung
 — Kontrolle, Algen in Normallösung, dreimal abzentrifugiert, weiter in Normallösung.

daß nach den bisherigen Erfahrungen auch evtl. wirksame Umlagerungsprodukte das markierte P-Atom besitzen und somit bei der Tracermessung mit erfaßt sind.

5. Wirkung von „Systox“ auf Atmung und synthetischen Wirkungsgrad von *Ankistrodesmus* und *Chlorella* in glukosehaltiger Nährlösung

Durch Zusatz von Glukose zur Nährlösung läßt sich der respiratorische O_2 -Verbrauch der Algen vervielfachen. Nur ein kleiner Anteil des gebotenen Zuckers wird dabei durch die Zellen oxydiert, die restliche Glukose wird eingebaut. Die Oxydation liefert die energetische Voraussetzung für diese gleichzeitig ablaufende Glukose-Assimilation (Myers 1947).

Der in Abb. 17 wiedergegebene Versuch zeigt die Atmung von *Ankistrodesmus* in 1%iger Glukoselösung (Glukosehydrat „Bayer“). Sofort nach Glukose-zusatz steigt die Atmung steil an und erreicht nach weiterem, etwas weniger steilem Kurvenverlauf in der dritten Stunde mit etwa 900 % der Grundatmung den Höchstwert.

Ähnlich wie in der Kontrolle steigt auch in der „Systox“-Lösung nach Glukosegabe die Atmung um ein Vielfaches der Grundatmung an. Auffällig ist hier aber, daß die Atmung mit „Systox“, die zunächst in rein anorganischer Nährlösung über dem Kontrollwert liegt, nach Glukosezusatz deutlich unter der Kurve des Kontrollversuchs bleibt. Die durch Glukosegabe ausgelöste Zusatzatmung ist also für die Dauer des Versuchs bei Gegenwart von „Systox“ etwas gedrückt. Gleiche Ergebnisse wie der in Abb. 17 wiedergegebene Versuch lieferten drei weitere Messungen.

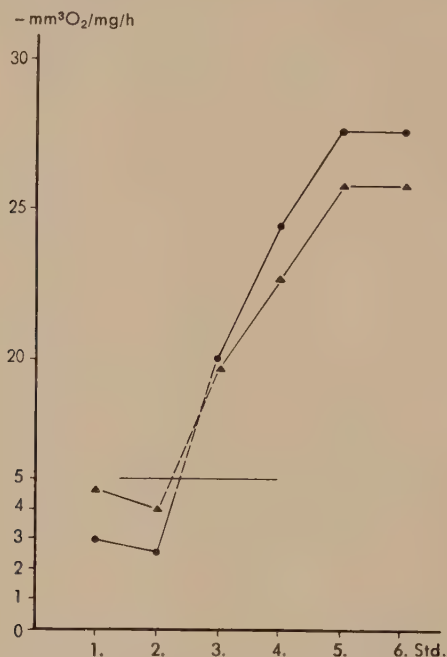


Abb. 17 *Ankistrodesmus*, Atmung in 0,006 %iger „Systox“-Lösung. 1. und 2. Stunde in anorganischer Nährlösung. Nach der 2. Stunde Zusatz von Glukose bis zu einem Glukosegehalt der Lösung von 1 %

● ● Kontrolle
 ▲ ▲ Algen in „Systox“-Lösung
 Suspensionsdichte: 3,5 mg/5 ml. Direkte KOH-Methode
 Ordinate zwischen 5 und 20 verkürzt

Da aus diesem Versuch keine Rückschlüsse auf den Umfang der Glukose-assimilation zu ziehen sind und sich demnach auch keine Angaben über das Verhältnis Oxydation: Assimilation machen lassen, ist im folgenden eine Methodik benutzt worden, die es gestattet, genauere Angaben über dieses Verhältnis zu machen.

Im Versuch der Abbildung 18 wurde die Atmung nach Glukosezusatz bis zu dem Zeitpunkt verfolgt, wo nach restlosem Einbau bzw. nach Veratmung des gebotenen Zuckers der O_2 -Verbrauch der Zellen wieder auf den Wert der Grundatmung zurücksinkt. Gleichzeitig wurde in einem Parallelversuch die Atmung in rein anorganischer Nährlösung bestimmt.

Zu einer derartigen Bestimmung, die für die ganze Dauer der erhöhten Glukoseatmung durchgeführt werden muß, ist es zweckmäßig, den Suspensionen nur eine geringe Zuckermenge zuzusetzen. Daneben ist es wünschenswert, einen Algenstamm zu wählen, der möglichst rasch den zugeführten Zucker durch Einbau oder Oxydation aus der Lösung beseitigt. Als ein dazu besonders geeignetes Objekt erwies sich nach den Erfahrungen des Marburger Botanischen Instituts ein Chlorellenstamm, der in der Sammlung Pringsheim unter der Nummer 211/11h geführt wird.

Subtrahiert man den gesamten in anorganischer Lösung (endogen) veratmeten Sauerstoff von den entsprechenden Atmungswerten in der Glukoselösung, so erhält man den durch Oxydation der Glukose bestrittenen Anteil des

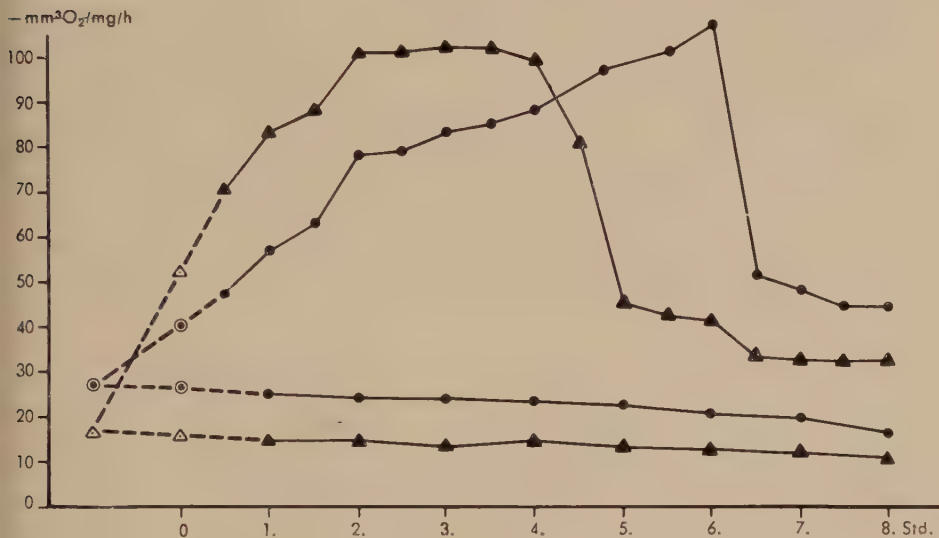


Abb. 18 *Chlorella* „11h“, respiratorischer O_2 -Verbrauch in 0,01 %iger „Systox“-Lösung. Jeder Meßpunkt gibt die Menge des im Mittel von 3 Messungen/Kölbchen/30 Minuten verbrauchten O_2 in mm^3 an

▲ ▲ Kontrolle
 ● ● Algen in „Systox“-haltiger Lösung
 obere Kurven: 45 Minuten vor Versuchsbeginn Zusatz von Glukose ($45 \mu mol/5 ml$)
 untere Kurven: Algen während des Versuchs in anorganischer Nährlösung
 Suspensionsdichte: $8,5 mg/5 ml$, Kulturalter 6 Tage, direkte KOH-Methode
 Der gestrichelte Teil der Kurve wurde durch Extrapolation ermittelt

O_2 -Verbrauchs. Durch eine einfache Rechnung läßt sich dann daraus die Menge der oxydierten bzw. assimilierten Glukose ermitteln.

Bei der Veratmung von 1 mol Glukose werden 6 Mol O_2 verbraucht. Berechnet man nach $V_t = V_o (1 + at)$ das Molvolumen für 24^0 mit $24,38 l$, so ergibt sich, daß bei der Veratmung von 1 Mol Glukose 6 mal $24,38 l = 146,28 l$ Sauerstoff verbraucht werden. Zur Oxydation von 1 Mikromol werden also $146,28 mm^3 O_2$ benötigt.

Bei einer durch „Systox“ hervorgerufenen Störung der Synthesevorgänge in der Zelle müßte der Anteil des veratmeten Zuckers steigen. Es würde dann

mehr Glukose veratmet, als normalerweise für den Kohlenhydrateinbau notwendig ist. Zunächst zeigt der Versuch auch hier, daß ähnlich wie bei *Ankistrodesmus* die Glukose-Zusatzatmung in „Systox“-Lösung deutlich hinter den Werten der Kontrolle zurückbleibt, während die endogene Atmung erwartungsgemäß um etwa 100 % gesteigert ist. Schließlich erreicht aber auch in der „Systox“-Lösung die Zuckeratmung den entsprechenden Maximalwert des Kontrollversuchs. Grundsätzlich scheint also auch in „Systox“-Lösung durch Glukose-Gabe eine Steigerung des O_2 -Verbrauchs in gleichem Maße möglich zu sein wie in Nährlösung ohne Präparat. Der verzögerte Anstieg der Atmung bei Gegenwart von „Systox“ könnte durch Veränderung der Permeabilitätsverhältnisse erklärt werden. Eine Steigerung der durch „Systox“-Zugabe in anorganischer Lösung hervorgerufenen Mehratmung tritt offenbar nie ein. Die Glukose-Zusatzatmung wird nicht durch das Präparat gesteigert.

Bei Betrachtung des Kurvenverlaufs fällt eine weitere Besonderheit auf: Nach Rückgang der Zusatzatmung liegt der O_2 -Verbrauch bei beiden Kurven des Versuchs noch wesentlich über den Werten der gleichzeitig untersuchten Algen in rein anorganischer Lösung. Diese Differenz erklärt sich damit, daß in anorganischer Nährlösung mit dem Verbrauch des Atmungssubstrats der Absolutwert der Atmung zurückgegangen ist. Demgegenüber haben die Algen während des siebenstündigen Aufenthalts in der Glukoselösung durch erhöhte Kohlenhydrat- und Nitrataassimilation einen nennenswerten Zuwachs an atmender Substanz zu verzeichnen, der in Gegenwart und in Abwesenheit von „Systox“ den gleichen Wert besitzt.

Um aus dem Umfang des respiratorischen O_2 -Verbrauchs Rückschlüsse auf den Verlauf der synthetischen Vorgänge in der Zelle zu gewinnen, werden die oben (s. S. 35) angeführten Formeln benutzt. Es ergibt sich danach aus der Glukosezusatzatmung die Menge der oxydierten Glukose und damit nach Subtraktion dieses Wertes von der Gesamtglukose die Menge des eingebauten Zuckers. (Aus versuchstechnischen Gründen mußte der gestrichelte Teil der Kurve durch Extrapolation ermittelt werden.)

Werden, wie oben gezeigt, zur Oxydation von 1 Mikromol Glukose 146,28 mm³ O_2 benötigt, so müßten bei vollständiger Veratmung des Zuckers nach Zugabe von 45 Mikromol insgesamt 6582 mm³ O_2 von den Algen aufgenommen werden.

Subtrahiert man im vorliegenden Versuch die endogene Normalatmung (Atmungswert der Suspensionen in anorganischer Lösung) von der Gesamtatmung der Glukosesuspensionen, so ergeben sich daraus von der ersten Messung bis zum Absinken der Kurven auf den Normalwert folgende Werte:

Tabelle 7. Anteil der endogenen Normalatmung und der Glukose-Zusatzatmung an der Gesamtatmung von *Chlorella*-Zellen in 0,01%iger „Systox“-Lösung bei Gegenwart von Glukose in der Nährlösung.
Suspensionsdichte: 8,5 mg / 5 ml, Kulturalter: 6 Tage.

	Kontrolle	Algen + Präparat
Gesamtatmung (— mm ³ O_2)	1055	1169
endogene Atmung	101	189
Glukose-Zusatzatmung	954	980

Während des Versuchs sind bis zum Fortfall der Zusatzatmung in der Kontrolle 954 mm³ O₂ zur Oxydation der gebotenen Glukose verbraucht worden, bei „Systox“-Gegenwart 980 mm³. Bei diesen Berechnungen ist im Gegensatz zu der bisher üblichen Annahme vorausgesetzt, daß bei Glukosegegenwart die Grundatmung unverändert weiterläuft. Ergebnisse von Daniel, die an anderer Stelle veröffentlicht werden sollen, rechtfertigen diese Annahme. Benötigt man für die Oxydation der Gesamtglukose pro Gefäß etwa 6580 mm³ Sauerstoff, dann sind also von den Algen in der Normallösung 14,5 % der gebotenen Glukose oxydiert worden, während die Algen in „Systox“-Lösung 14,8 % des gebotenen Zuckers oxydierten. Die geringere Differenz dieser beiden Werte liegt noch im Fehlerbereich. Das Verhältnis von veratmetem Zucker zu eingebautem Material und die Absolutmenge der eingebauten Glukose verändern sich durch „Systox“-Zusatz anscheinend nicht. Lediglich scheint die Glukose-Aufnahme bei Gegenwart des Präparates etwas verzögert zu sein.

Die synthetischen Vorgänge, die mit dem Einbau der Glukose verbunden sind, laufen also offenbar auch nach „Systox“-Zusatz normal ab. Dieses Ergebnis steht in Übereinstimmung mit den oben bereits angeführten Beobachtungen (s. S. 20). Das Plasmawachstum kommt nach Überführen von *Ankistrodesmus* in „Systox“-Lösung dieser Konzentration zunächst noch nicht zum Stillstand.

6. Respiratorischer O₂-Verbrauch von Wurzeln in „Systox“-Lösung

Atmungsmessungen an Wurzeln höherer Pflanzen beanspruchen bei der Diskussion der Stoffwechselwirksamkeit systemischer Pflanzenschutzmittel ein gewisses Interesse. Systemische Präparate werden, wo es die Verhältnisse verlangen, auch durch Angießen an die Wurzel appliziert oder in Kapseln an die Wurzeln gebracht. Nach den Ergebnissen des Kressetests und nach Untersuchungen über die Wasseraufnahme der Wurzeln aus „Systox“-Lösung (Tietz) ist zu erwarten, daß auch das physiologische Geschehen in der Wurzel durch das Präparat beeinflußt werden kann. Wurzeln sind zudem aus methodischen Gründen für manometrische Messungen in besonderem Maße geeignet. Sie sind die einzigen Gewebe der Kulturpflanzen, mit denen sich manometrische Bestimmungen nach der üblichen Methodik durchführen lassen, ohne daß man die Versuchsobjekte unter unphysiologische Bedingungen zu bringen braucht.

Die für die Versuche vorgesehenen *Tradescantia*-Stecklingswurzeln wurden zwei Stunden vor Versuchsbeginn mit Rasierklingen abgetrennt und in frische Knop-Nährlösung gebracht. Später wurden diese Wurzeln mit einem weichen Pinsel in die Versuchskölbchen überführt. In allen Fällen wurde das Präparat erst während des Versuchs als Emulsion aus einer Ansatzbirne des Kölbchens zugegeben. Vorher war in Kontrollversuchen sichergestellt worden, daß der Emulgator selbst nicht auf die Wurzeln wirkt. Die Messungen wurden nach der direkten KOH-Methode durchgeführt. Nach Abschluß der manometrischen Messungen wurde jeweils das Trockengewicht der in die einzelnen Kölbchen eingefüllten Wurzeln bestimmt.

Die *Tradescantia*-Wurzeln in der Lösung des Präparates zeigen bis zu einer Konzentration von 0,01 % „Systox“-Handelspräparat vollständige Übereinstimmung im respiratorischen O₂-Verbrauch mit den Wurzeln in der Kontrollösung. Messungen wurden bis 20 Stunden nach Zugabe des Präparates durchgeführt.

Zuckerrübenwurzeln zeigten auch bei 0,08 % „Systox“-Gehalt noch keine Störungen.

In weiteren Versuchen wurde die O_2 -Aufnahme der *Tradescantia*-Wurzeln in höher konzentrierten Lösungen des Präparates gemessen. In Konzentrationen zwischen 0,05 und 0,07 % zeigten sich erste Störungen. Nach Überführen der Wurzeln in eine 0,08%ige Lösung fällt die Atmung stark ab (Abb. 19). Es kommt dabei schon nach etwa 5 Stunden zu irreversiblen Schädigungen der Wurzeln, die sich auch deutlich im mikroskopischen Befund zu erkennen geben. Gleiche Störungen ergaben sich bei der Zuckerrübenwurzel erst bei einer Konzentration von 0,1 % Handelspräparat in der Versuchslösung. Unerwartet ist, daß bei keiner Atmungsmessung an Wurzeln Steigerungen des O_2 -Verbrauchs beobachtet wurden, die für die untersuchten grünen Gewebe (*Helodea*-Blätter, *Chlorella*, *Ankistrodesmus*) in „Systox“-Lösung so charakteristisch waren.

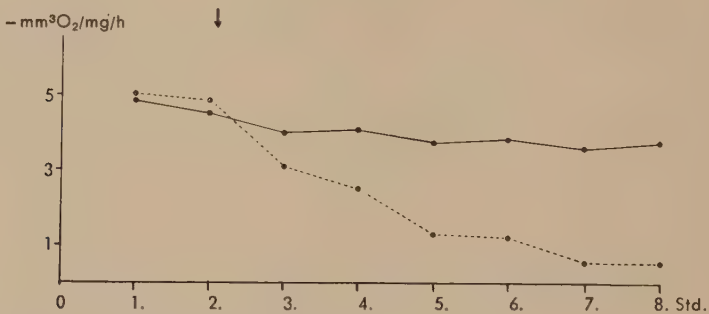


Abb. 19 Atmung von *Tradescantia*-Wurzeln

— Kontrolle

..... Nach der 2. Stunde (Pfeil) Zugabe von „Systox“ bis zu einem „Systox“-Gehalt von 0,08% in der Versuchslösung

Direkte KOH-Methode

Bei Einwirkung höherer Konzentrationen auf die Zelle können also, wie diese Befunde zeigen, gewisse Störungen auftreten. Ähnliche Schäden an Blättern (Tietz), die dem Praktiker als „Verbrennungen“ nach starker Überdosierung bekannt sind, sind recht oft auch nach Applikation anderer systemischer Insektizide (z. B. „Schradan“-Präparate) beschrieben worden. Ripper und Mitarb. weisen z. B. auf die relativ hohe „Schradan“-Empfindlichkeit von *Vicia faba* hin und erwähnen empfindliche Störungen bei verschiedenen Apfelsorten (Cox Orange Renette, Greenupsapfel [*pippin american*] Worcester parmaene).

Mit Schäden allgemeiner Natur muß nach den bisherigen Erfahrungen also gerechnet werden, wenn Lösungen von etwa 0,1 % „Systox“-Gehalt in länger dauernde, unmittelbare Berührung mit dem Wurzelsystem kommen. Die bei einigen sehr stark warmlüfter-toxischen systemischen Mitteln übliche Applikation durch Eingraben von wasserlöslichen Kapseln, die das unverdünnte Präparat enthalten (Hanna), scheint aus den gleichen Gründen besonders anfechtbar zu sein.

In den hier vorgelegten Versuchen waren die Wurzeln immer in die wäßrige Lösung bzw. Emulsion des Präparates gebracht worden. Es ist jedoch be-

kannt, daß „Systox“ und auch andere systemische Mittel aus dem Boden nur in geringerem Umfang aufgenommen werden als aus Nährlösungen. Darüber hinaus war bekannt, daß die Aufnahme von „Systox“ (Tietz) und auch die Aufnahme von „Schradan“ (David, Casida und Mitarb.) in hohem Maße von der Bodenart, aus der das Präparat aufgenommen werden soll, abhängt. Um hier einige genaue Angaben machen zu können, wurde versucht, die Adsorption des Präparates in Bodensäulen verschiedener Höhe und unterschiedlicher Zusammensetzung zu erfassen.

Die Versuche, die in diesem Zusammenhang nur erwähnt sein sollen, brachten recht klare Ergebnisse. Es stellte sich heraus, daß schon nach Durchlauf einer Schicht von etwa 4 cm Gewächshauserde oder 6 cm Lehm oder 8 cm Sand der Präparatgehalt (bzw. der Gehalt an ^{32}P) um eine Zehnerpotenz abgesunken ist.

Diese Resultate machen es unwahrscheinlich, daß bei Anwendung von „Systox“ als Gießmittel im Bereich der Wurzel Konzentrationen im Kapillarwasser auftreten, die zu sicher erfaßbaren Wurzelschäden Anlaß geben. Konzentrationen von mehr als 0,08 % Handelspräparat, die *Tradescantia*- und Zuckerrübenwurzeln schädigten, werden bei normaler Applikation nicht erreicht. Konzentrationen, die im Kressetest hemmend wirken, werden gleichfalls im Wurzelbereich normalerweise nicht auftreten oder doch sehr schnell durch Verdünnung zurückgedrückt werden.

Im Laufe der Zeit wird die Konzentration des Präparates im Kapillarwasser des Bodens durch Auswaschung und andere Formen des Abtransports mehr und mehr herabgesetzt. Die an den Bodenteilchen in starkem Maße adsorptiv gebundenen „Systox“-Moleküle werden dann fortlaufend wieder in das Kapillarwasser abgegeben. Die gute Adsorbierbarkeit des „Systox“ im Boden verhindert also nicht nur das Auftreten phytotoxisch wirkender Konzentrationen, sondern ist gleichzeitig eine der Ursachen für die bekannt gute Dauerwirkung des Mittels nach Applikation durch Angießen.

D. Photosynthesemessungen

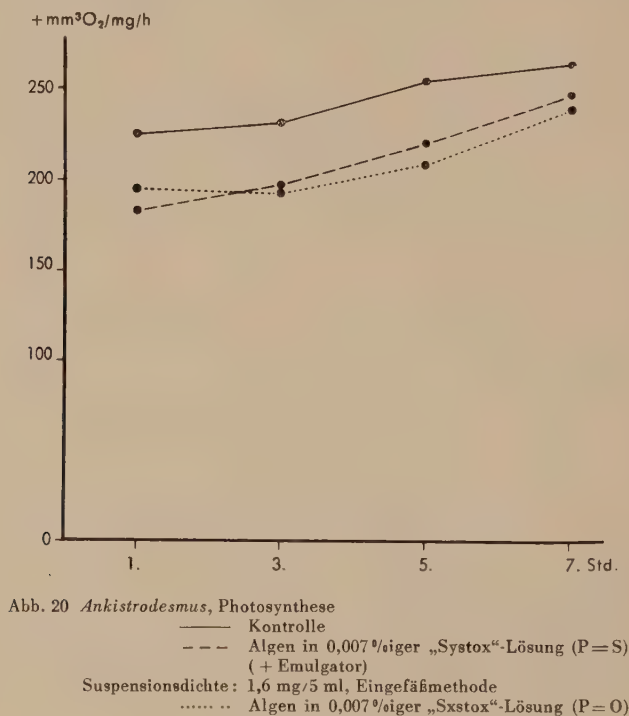
1. Einfluß verschiedener „Systox“-Konzentrationen auf die Photosynthese

Orientierend wurden zunächst einige Versuche angestellt, um die Wirkung niedriger „Systox“- und auch „Schradan“-Konzentrationen auf die Photosynthese zu prüfen. Einige dieser Versuche sind in der Tabelle 9 zusammengestellt.

Tabelle 9. Photosynthese von *Ankistrodesmus* in „Systox“- und „Schradan“-Lösungen. Eingefäßmethode, 2,4 mg Trockengewicht / 8 ml. Kulturalter 5 Tage. Die angegebenen Werte sind Mittel aus fünf aufeinanderfolgenden stündlichen Ablesungen.

	„Systox“-Wirkstoff			„Schradan“		
	Kontrolle	0,001 %	0,004 %	Kontrolle	0,006 %	0,016 %
+ mm ³ O ₂ /mg/h	194	191	178	193	190	160

Bei beiden hier geprüften Präparaten ist in niedrigen Konzentrationsbereichen keine Beeinflussung des Photosynthesegaswechsels festzustellen. In weiteren Versuchen wurde nach der Zweigefäßmethode auch der Photosynthesequotient (PQ) der Algen in Lösung dieser Konzentration bestimmt. Auch die Quotienten zeigten bei Gegenwart des Präparates keine Abweichung von der Kontrolle. Nach einem Rückblick auf frühere Befunde, wonach in „Systox“-Konzentrationen bis zu 0,005 % keine Beeinflussung der Atmung festzustellen ist, läßt sich also sagen, daß die untersuchten Einzeller in Lösungen mit weniger als 0,004 % „Systox“-Gehalt hinsichtlich ihrer Stoffwechselgrundvorgänge in keiner Weise von den Zellen in der präparatfreien Kontrolllösung abweichen.



Das gleiche ließ sich auch für die nach derselben Methodik untersuchten *Helodea*-Blätter zeigen. Diese Ergebnisse stehen mit den Resultaten der Trockengewichtsbestimmungen (Abb. 4) in Einklang.

Ähnlich wie bei allen bisherigen Versuchen mußten auch bei den Photosynthesemessungen die höheren Konzentrationen (ab 0,004 %) des Präparates als Emulsionen angewandt werden. Es war wieder zunächst sichergestellt worden, daß der reine Emulgator selbst keinen Einfluß auf die zu untersuchenden Stoffwechselvorgänge ausübt.

Aus den beiden in der Tabelle 9 wiedergegebenen Versuchen ist ersichtlich, daß „Systox“ und „Schradan“, beginnend bei einer gewissen Grenzkonzentration, die Photosynthese der hier untersuchten Objekte schwach hemmen. Für

„Systox“ dürfte diese Grenze bei etwa 0,004 % liegen, für „Schradan“ in einem Bereich kurz oberhalb von 0,01 %. Auch hier sind wieder nicht die Absolutwerte der Präparatkonzentration, sondern nur die Konzentrationen gleicher insektizider Potenz (s. S. 16) vergleichbar.

In weiteren Versuchen wurde die Wirkung höher konzentrierter Emulsionen untersucht. Es stellt sich dabei heraus, daß die beiden Isomeren des „Systox“ in entsprechend hohen Konzentrationen die Photosynthese in genau gleichem Umfang hemmen (Abb. 20), während sie sich in ihrer Wirkung auf die Atmung deutlich unterscheiden (s. S. 26). Wahrscheinlich ist dieser Unterschied damit zu erklären, daß Photosynthese- und Atmungssteigerung durch verschiedene Faktoren bedingt sind.

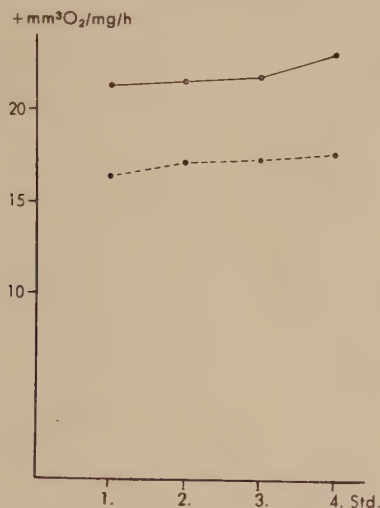


Abb. 21 *Helodea canadensis*, Photosynthese in 0,07%iger „Systox“-Lösung (+ Emulgator)

— Kontrolle
 --- Blätter in „Systox“-Lösung, Eingefäßmethode

Die Photosynthesehemmung setzt sehr bald nach Zugabe des Präparates ein. In dem vorliegenden Versuch wurde das Präparat 40 Min. vor Beginn der Messung zugegeben. Andere Photosynthesemessungen wurden bis zu 40 Std. nach Zugabe des Präparates durchgeführt. Bei den langfristigen Versuchen waren die Algen zunächst 35 Std. (ähnlich wie in den auf S. 32 wiedergegebenen Versuchen) im Schwachlicht (800 Lux) bei 20 ° ohne Durchleiten von Luft-CO₂-Gemisch geschüttelt worden. Nach so langem Einwirken des „Systox“ (0,007 %) ergaben die Messungen das gleiche Bild wie unmittelbar nach Zugabe der Präparate. Die bei dieser Konzentration auftretende Störung ist also noch wenig tiefgreifend (vgl. dagegen S. 44).

Wie bei der Atmung ergibt sich für die Photosynthesehemmung bei *Helodea* das gleiche Bild wie für *Ankistrodesmus* (Abb. 21). Auch dort macht sich sehr bald nach Überführen in eine 0,007%ige Wirkstofflösung bzw. Emulsion eine etwa 20%ige Hemmung des Photosynthesegaswechsels bemerkbar.

Schließlich sei als Vergleich zur Abb. 20 noch ein Photosyntheseversuch mit *Ankistrodesmus* in 0,016%iger „Schradan“-Lösung wiedergegeben (Abb. 22). Die relativ niedrige Suspensionsdichte und das geringere Alter der Kultur erklären die höheren Photosynthesewerte auch in der Kontrolle.

Von Beginn des Versuchs an ist die Photosynthese stark gehemmt. Die etwa 25%ige Hemmung und ihre Folgeerscheinungen kommen auch darin zum Ausdruck, daß im Gegensatz zur Kontrolle in der „Schradan“-haltigen Lösung die Photosynthese während der sechsständigen Versuchszeit nur kaum merklich ansteigt.

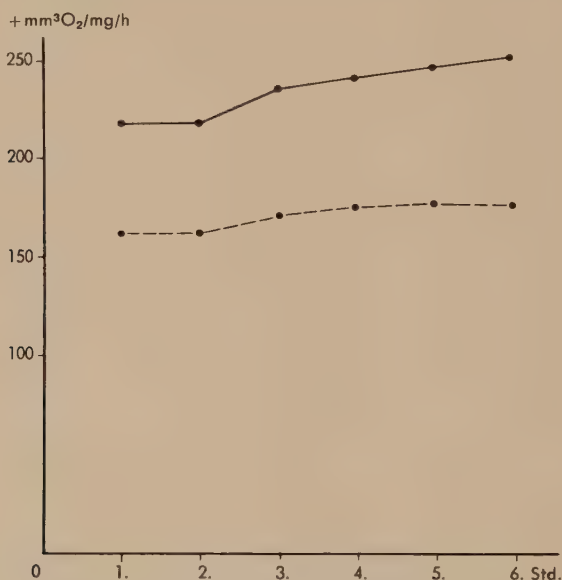


Abb. 22 *Ankistrodesmus*, Photosynthese in 0,016%iger „Schradan“-Lösung (+ Emulgator)

— Kontrolle

- - - Algen in Lösung des Präparates

Suspensionsdichte: 2,4 mg/5 ml, Eingefäßmethode

Bei einem Vergleich der Versuche der Abb. 11 und 20 zeigt sich, daß die Depression der apparenten Photosynthese nicht durch die gleichzeitig auftretende Atmungssteigerung zu erklären ist. Während der respiratorische O₂-Mehrverbrauch / 5 Std./mg etwa 3 mm³ beträgt, liegt die O₂-Produktion im Photosyntheseversuch bei „Systox“-Gegenwart / 5 Std./mg nahezu um 80 mm³ niedriger als in der Kontrolle. Das Zurückbleiben der O₂-Produktion im Licht nach „Systox“-Zusatz ist demnach auf eine Hemmung der reellen Photosynthese zurückzuführen.

2. Reversibilität der Photosynthesestörungen

Oben war gezeigt worden, daß der Anstieg des respiratorischen O₂-Verbrauchs nach einer Erniedrigung der einwirkenden Präparatkonzentration wieder zurückgeht. Es kann sich also noch nicht um allzu tiefgreifende Schäden

handeln. Im folgenden soll zunächst der Einfluß des Präparates auf die Photosynthese weiter analysiert und insbesondere vergleichend festgestellt werden, wie weit auch die Depression der Photosynthesevorgänge reversibel ist.

Wie bei der Untersuchung über die Reversibilität der Atmungsstörung wurden auch hier entsprechend dem auf Seite 32 wiedergegebenen Versuch drei unterschiedlich vorbehandelte Algensuspensionen untersucht:

1. Algen seit 5 Std. in „Systox“-Lösung, weiter in „Systox“-Lösung
2. Algen seit 5 Std. in „Systox“-Lösung, Präparat ausgewaschen, weiter in „Systox“-freier Lösung
3. Kontrolle, Algen allen Arbeitsgängen wie die Partien 1 und 2 unterworfen, aber jeweils in „Systox“-freier Nährlösung.

Mit jeder Suspension wurden vier Versuchskölbchen beschickt. Eine Stunde nach Überführen in die Versuchslösungen begannen die manometrischen Messungen.

Die Kurven der Abb. 23 und der Abb. 16 zeigen deutliche Unterschiede. Während die Atmung nach mehrmaligem Waschen der Algen erst langsam, im Verlauf von mehr als 12 Std. auf den Normalwert zurückgeht, entspricht die photosynthetische Leistung der Algen unmittelbar nach Auswaschen des „Systox“ fast den Werten der Kontrolle. Eine schwache Depression bleibt aber für

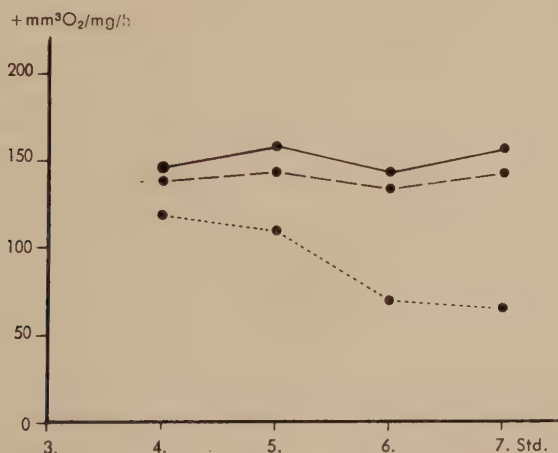


Abb. 23 *Ankistrodesmus*, Reversibilität der durch „Systox“-Zusatz hervorgerufenen Photosynthesedepression

- Kontrolle, Algen allen Arbeitsgängen wie die beiden anderen Partien unterworfen, aber jeweils in „Systox“-freier Nährlösung.
- - - Algen seit 5 Stunden in „Systox“-Lösung, Präparat durch dreimaliges Abzentrifugieren ausgewaschen, weiter in „Systox“-freier Lösung.
- Algen seit 5 Stunden in „Systox“-Lösung, weiter in „Systox“-Lösung

Suspensionsdichte: 1,3 mg/5 ml, Eingefäßmethode

Vergleichbar mit der Kurve 2 und 3 ist nur der erste Meßwert der Kurve 1, da in Versuch 1 die Algen durch das weitere Verbleiben in der Lösung des Präparates fortlaufend weiter geschädigt werden.

längere Zeit unvermindert erhalten, während die Photosynthese der Algen, die in der hochkonzentrierten Emulsion (0,01 % Wirkstoff) verblieben sind, weiter zurückgeht. Diese Erscheinung ist wahrscheinlich auf sekundäre photooxydative Schädigungen zurückzuführen, die nach dem Versuch der Abb. 20 bei Anwendung niedriger Wirkstoffkonzentrationen (0,007 %) noch nicht auftreten. Der Unterschied der Probe 1 und 2 stellte sich in gleichem Umfang in den zwei Parallelversuchen ein, er war aber immer so gering, daß er nicht zu sichern ist.

Um nachzuweisen, daß der Photosyntheseversuch mit den Atmungsmessungen der Abb. 16 zu vergleichen ist, wurde nach Abschluß der Photosyntheseversuche anschließend bei den gleichen Suspensionen der respiratorische O_2 -Verbrauch bestimmt. Die Atmungsmessung fand in der 9. Stunde nach Überführen der Algen in die Versuchslösung statt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 10 wiedergegeben. Sie entsprechen vollständig den nach Abb. 16 zu erwartenden Werten. Die Atmung scheint sich hier also ähnlich wie im Versuch Abb. 16 zu verhalten, während der Photosyntheseverlauf ein vollkommen anderes Bild ergibt als die Kurven dieses Atmungsversuchs.

Tabelle 10. Respiratorischer O_2 -Verbrauch der *Ankistrodesmus*-Suspensionen nach Abschluß der Photosynthesemessung des Versuchs Abb. 23 (9. Stunde nach Versuchsbeginn), direkte KOH-Methode.

	— $mm^3 O_2/mg/h$
Algen in „Systox“-freier Lösung	6,0
Algen aus „Systox“-Lösung in präparatfreie Lösung überführt	8,7
Algen in 0,01%iger „Systox“-Lösung belassen	11,5

Nach dreimaligem Auswaschen ist bereits ein nennenswerter Anteil des Präparates aus den Zellen entfernt (Tab. 4). Damit ist zu erklären, daß die Photosynthesehemmung bei Beginn der manometrischen Messung schon fast restlos zurückgegangen ist. Auch ein weiteres Verbleiben in „Systox“-freier Lösung, bei dem noch mehr als ein Drittel des verbliebenen Präparates ausgewaschen wird (Tab. 4), läßt die Photosynthesekurve nicht weiter ansteigen. Man muß annehmen, daß schon unmittelbar nach dem Abzentrifugieren der Normalwert der Photosynthese nahezu wieder erreicht ist.

Die Atmung ist nach dreimaligem Auswaschen dagegen noch auf gleicher Höhe wie in vollkonzentrierter „Systox“-Lösung. Nach weiterem Verbleiben in präparatfreier Lösung und damit verbundenem weiterem Auswaschen des Präparates aus den Zellen (s. wieder Tab. 4) sinkt schließlich auch die Atmung langsam auf den Normalwert zurück. Diese Befunde lassen drei verschiedene Deutungsmöglichkeiten zu:

1. Die Atmung wird so nachhaltig angeregt, daß diese Steigerung als „Stimulation“ auch nach Auswaschen des „Systox“ noch für eine beschränkte Zeit beibehalten wird, während demgegenüber die Photosynthesedepression sehr kurzfristig reversibel ist.
2. Das Wirkstoffmolekül ist aus den intrazellulären Strukturbereichen, in denen es auf die Atmung wirkt, nur schwer auszuwaschen, während es von den Stellen, an denen es Einfluß auf die Photosynthese gewinnt, leicht zu entfernen ist.

3. Die Atmungssteigerung ist im Gegensatz zur Photosynthesedepression auf Sekundär- oder Nebenprodukte zurückzuführen, die nur langsamer als das ursprüngliche Präparat aus den Zellen zu entfernen sind.

Diese Vorstellung steht in Übereinstimmung mit mehreren anderen hier vorgelegten Befunden. Es ist denkbar, daß alle drei angeführten Möglichkeiten nebeneinander zur Erklärung der Versuchsergebnisse von Abb. 11 und 23 herangezogen werden müssen.

E. Nitratassimilation (Gaswechselquotient)

Neben Photosynthese und Atmung lassen sich mit Hilfe von Gaswechselquotientenbestimmungen*) nach den indirekten Zweigefäßmethoden einige andere Faktoren erfassen, die auf die Lage der Quotienten einwirken. Die Höhe des CO_2 -Defizits bzw. die Menge der gebildeten Extra-Kohlensäure hängen insbesondere von der Oxydationsstufe des Atmungssubstrats und vom Umfang der synthetischen Vorgänge einschließlich der Nitratassimilation ab.

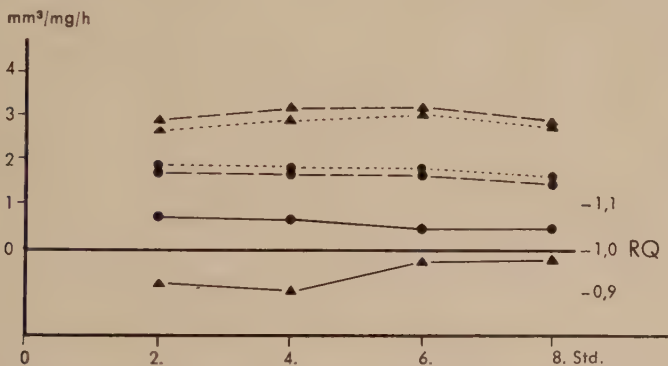


Abb. 24 Wirkung von „Systox“-Zugabe auf respiratorischen O_2 -Verbrauch, CO_2 -Produktion und respiratorischen Quotienten bei *Anikistrodesmus* in Nitratlösung

- ● Kontrolle
- ▲ ▲ Algen in 0,01%iger „Systox“-Lösung
- O_2 -Verbrauch
- CO_2 -Abgabe
- Respiratorischer Quotient

Suspensionsdichte: 14,0 mg/6 ml. Kulturalter 9 Tage, $\pm$ KOH-Methode

1. Lage des respiratorischen Quotienten bei Gegenwart von „Systox“ in Nitratnährlösung

Um den Nachweis zu erbringen, daß es sich bei der Steigerung des respiratorischen O_2 -Verbrauchs durch „Systox“ um eine echte Atmungssteigerung handelt, war oben bereits mit Hilfe der $\pm$ KOH-Methode auch die CO_2 -Abgabe bestimmt worden. Abgesehen von der Bedeutung dieses Versuchs für diese spezielle Fragestellung, gibt er noch einige weitere aufschlußreiche Hinweise.

*) Unter RQ wird im folgenden das Verhältnis $-\text{CO}_2/\text{O}_2$, unter PQ $-\text{O}_2/\text{CO}_2$ verstanden. Zur Vereinfachung der Darstellung bleibt das negative Vorzeichen der Quotienten unbeachtet. Bei einer Veränderung der Quotienten von 0,9 auf 1,1 wird daher von einem Quotientenanstieg gesprochen.

In Abb. 24 ist der Versuch von S. 32 nochmals wiedergegeben. Zusätzlich sind hier die Werte des RQ eingetragen. Die Tabelle 11 gibt zu diesem Versuch außer den Quotienten auch noch die Extra-CO₂-Werte an.

Tabelle 11. *Ankistrodesmus*, RQ und Extra-CO₂-Produktion der Algen in 0,01 %iger „Systox“-Lösung. Suspensionsdichte: 14,0 mg/6 ml, Kulturalter 9 Tage, $\pm$ KOH-Methode.

	Extra-CO ₂ /mg Trockengew./h		RQ	
	+ Präparat	Kontrolle	+ Präparat	Kontrolle
1. Std.	— 0,26	+ 0,12	0,91	1,07
2. Std.	— 0,32	+ 0,10	0,90	1,06
3. Std.	— 0,07	+ 0,07	0,98	1,04
4. Std.	— 0,06	+ 0,07	0,98	1,04
Gesamt:	— 0,71	Gesamt: + 0,36	Mittel: 0,94	Mittel: 1,05

Der Quotient in der Kontrolle liegt, bedingt durch die oben aufgeführten Faktoren, während des ganzen Versuchs bei etwa 1,05. Bei Gegenwart von „Systox“ fällt nicht nur die Extra-CO₂-Produktion fort, sondern der O₂-Verbrauch überwiegt sogar die CO₂-Abgabe. Der Quotient liegt dadurch zwischen 0,9 und 1,0.

Für diesen hohen O₂-Verbrauch und das Absinken des Quotienten bis unter 1 könnte man neben dem Fehlen der Nitratassimilation und einem Zurücktreten entsprechender Synthesevorgänge das Auftreten von Oxydationsprozessen außerhalb der Atmung verantwortlich machen, die evtl. durch die Einwirkung schädigender Konzentrationen des Präparates ausgelöst werden. Gegen eine derartige Annahme spricht allerdings die oben nachgewiesene Reversibilität des atmungssteigernden Effekts, die eine allzu tiefgreifende Schädigung unwahrscheinlich macht.

2. Messung des respiratorischen Quotienten in Nährlösung mit Ammonsalz als Stickstoffquelle

Einige Quotientenbestimmungen in nitratfreier Nährlösung sollten Klarheit darüber verschaffen, ob die beobachteten Quotientenverschiebungen auf Störungen der Nitratreduktion oder auf eine Hemmung anderer, den Gaswechsel beeinflussender Synthesevorgänge zurückgeführt werden müssen.

Wie in der Nitratlösung, so liegt auch in der Ammonlösung bei Gegenwart von „Systox“ (0,01 % Wirkstoff) der RQ dicht unter 1 (Abb. 25). Während des ganzen Versuches überwiegt die O₂-Aufnahme, wenn auch nur sehr schwach, die CO₂-Produktion. Insbesondere in den ersten Stunden des Versuchs ist ähnlich wie in der Nitratlösung auch in der Ammonlösung der Quotient stark gedrückt.

In der Kontrolle dagegen liegt der Quotient zwar etwas tiefer als in Nitratlösung, aber trotz Ausschaltung der Nitratreduktion noch deutlich über 1. Für diese Extra-Kohlensäurebildung können Synthesen von Kohlenstoffverbindungen niedrigerer Oxydationsstufen verantwortlich gemacht werden. Auf Grund von Elementaranalysen bei normal ernährter *Chlorella* errechnete Myers (1949) nach Anzucht in Ammonlösung Quotienten bis 1,1, die er lediglich durch derartige Synthesen erklärt.

Hiernach stellt sich also heraus, daß nicht nur die Nitratreduktion, sondern auch andere synthetische Vorgänge durch „Systox“ gehemmt werden können. Es ist bemerkenswert, daß diese Hemmwirkung in Konzentrationsbereichen einsetzt, in denen das Präparat die respiratorischen Vorgänge steigert. Abschaltung der Synthesen wird in ähnlicher Weise auch durch 2,4-Dinitrophenol herbeigeführt, das gleichzeitig in einem bestimmten Konzentrationsbereich atmungssteigernd wirkt.

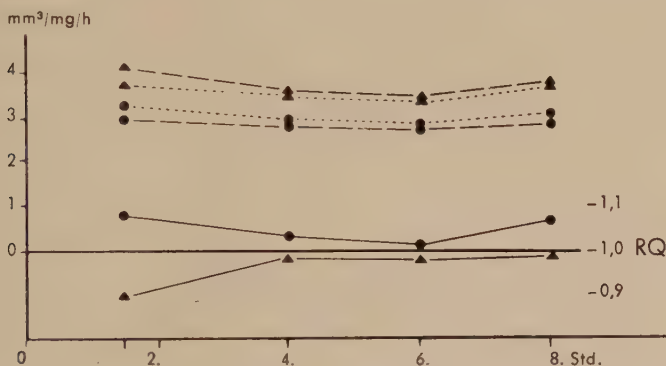


Abb. 25 Wirkung von „Systox“ auf die Atmung von *Ankistrodesmus* in Nährlösung mit Ammonsalz als Stickstoffquelle

- ● Kontrolle
- ▲ ▲ Algen in 0,01 %iger „Systox“-Lösung
- — — Respiratorischer Quotient
- - - O₂-Verbrauch
- CO₂-Produktion

Suspensionsdichte: 12,5 mg/6 ml, Kulturalter 5 Tage, ± KOH-Methode

3. Lage des photosynthetischen Quotienten bei Gegenwart von „Systox“

Ähnlich wie gewöhnlich ein respiratorischer Quotient von 1 vorausgesetzt wird, wird in den meisten Fällen auch die O₂-Produktion der Photosynthese nach der direkten Zweigasmethode unter der Annahme eines PQ = 1 berechnet.

Nach den Erfahrungen von Pirson und Mitarb. und von Krollpfeifer ist es aber insbesondere bei jungen Kulturen mit relativ hoher Nitrataassimilation zu erwarten, daß der Quotient erheblich über 1 ansteigt (zwischen 1,0 und 1,2). Die bei einer derartigen Messung unter Zugrundelegung eines

PQ von 1 durchgeführte Berechnung der O_2 -Produktion ergibt also recht unzuverlässige Werte. Sowohl Absoluthöhe wie Verlauf der O_2 -Produktion können dabei erheblich verfälscht werden.

Um diesen Fehler zu vermeiden, wurden in einigen Versuchen die O_2 -Produktion und der CO_2 -Verbrauch bei der Photosynthese in 0,1%iger „Systox“-Lösung nach der Gefäßdifferenzmethode (s. Formelanhang) bestimmt*.

Ab. 26 zeigt wieder wie schon frühere Versuche die erhebliche Photosynthesedepression in 0,01%iger Emulsion des „Systox“-Wirkstoffs, die also auch bei einer Bestimmung der O_2 -Produktion nach der Zweigefäßmethode

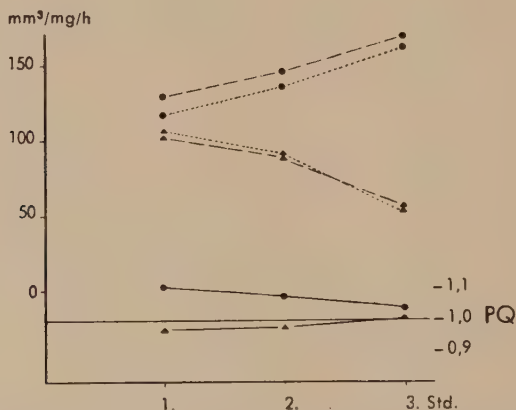


Abb. 26 Wirkung von „Systox“-Zusatz auf die apparente Photosynthese von *Ankistrodesmus*

- ● Kontrolle
- ▲ ▲ Algen in 0,01 %iger „Systox“-Lösung
- Photosynthesequotienten
- - - O_2 -Produktion
- CO_2 -Verbrauch

Suspensionsdichte: 1,0 mg/6 ml

Kulturalter 7 Tage, Gefäßdifferenzmethode

hervortritt. Der PQ liegt hier bei Gegenwart des Präparates gleichbleibend bei etwa 1, während sich bei der Kontrolle während der gesamten Versuchszeit ein deutliches CO_2 -Defizit findet, das man hier wie die Extra-Kohlensäure der entsprechenden Atmungsversuche mit der Nitratassimilation und anderen synthetischen Vorgängen in Zusammenhang bringen kann. Der schwache Quotientenabfall in der Kontrolle dürfte auf photooxydative Prozesse infolge einer bereits supraoptimalen Beleuchtung zurückzuführen sein. Der Versuch bestätigt die übrigen Photosynthesemessungen und ergänzt gleichzeitig auch die Befunde der RQ-Bestimmungen.

* Bei Benutzung der Gefäßdifferenzmethode wurden Gefäße von 22 und 30 ml Gesamtvolumen bei 8 ml Flüssigkeitsvolumen benutzt.

F. Anhang: Freilandversuche an *Vicia faba* L.*

Die hier vorgelegten Versuche haben sich im wesentlichen mit der Natur und Bedeutung der Störungen befaßt, die bei Überdosierungen von „Systox“- und „Schradan“-Präparaten auftreten können. Gleichzeitig konnte gezeigt werden, daß bei mittlerer und niedriger Dosierung bei den untersuchten Objekten keine auch noch so geringfügige Störung nachzuweisen ist.

Wie einleitend erwähnt, hatte man in der Praxis gelegentlich den Eindruck, daß das Präparat „Systox“ in der Anwendungskonzentration nicht nur außerordentlich gut pflanzenverträglich sei, sondern darüber hinaus die niedrigsten Dosen noch einen positiven, das Gedeihen der Pflanzen „stimulierenden“ Effekt aufweise. Gaben die vorliegenden Versuche keinerlei Hinweise für eine solche Wirkung des „Systox“ wie auch des „Schradan“, so sollte doch auch in einem Feldversuch unter Freilandbedingungen noch einmal diese Frage aufgegriffen werden.

Im Freilandversuch ist es praktisch unmöglich, einen geringen, u. U. auch nur unbedeutend erscheinenden Schädlingsbefall ganz auszuschließen. Immer wird also bei Anwendung des zu prüfenden Mittels diese, wenn auch geringe Schädlingsfauna ausgeschaltet. In den behandelten Parzellen wird daher ein Mehrertrag auftreten, bei dem meist nicht mit Sicherheit zu entscheiden ist, ob er durch die insektizide Wirkung oder durch eine stoffwechselphysiologische Wirksamkeit des angewandten Präparates erklärt werden muß.

Nikotin-Parzelle

		O ₁			F ₁		
O ₂	F ₂						
					O ₃	F ₃	
	F ₄					O ₄	

„Systox“-Parzelle

G ₄	O ₄	G ₃	D ₃	E ₂	G ₁	A ₁	O ₁
E ₄	A ₄	E ₃	B ₃	C ₂	F ₂	O ₂	B ₁
C ₄	D ₄	F ₂	O ₃	A ₂	G ₂	G ₁	D ₁
B ₄	F ₄	C ₃	A ₃	D ₂	B ₂	E ₁	F ₁

Abb. 27 Aufteilung der Parzellen im Freiland-Spritzversuch an *Vicia faba*

Bei der hier vorliegenden Fragestellung ist es daher vorteilhaft, wenn in den Versuchspartellen der Schädlingsbefall so niedrig wie eben möglich ist. Das Frühjahr und der Sommer des Jahres 1953 brachten im Gegensatz zum Vorjahr eine extrem feuchtkühle Witterung. Es stand zu erwarten, daß diese Wetterlage im Gegensatz zu den Verhältnissen im Jahr 1952 ein Blattlausauftreten fast ganz ausschließen würde. Einen Überblick über die Witterungsverhältnisse im Frühjahr und Sommer 1953 auf dem Versuchsgut Höfchen gibt die Abb. 28. Im Vergleich dazu sind die Mittel der neun vorausgegangenen Jahre angegeben**.

* Herrn Dr. G. Unterstenhöfer danke ich für die Überlassung der Versuchsfäche und gleichzeitig auch für manche wertvolle Anregung.

** Angaben nach Aufzeichnungen der Wetterstation des Versuchsgutes Höfchen.

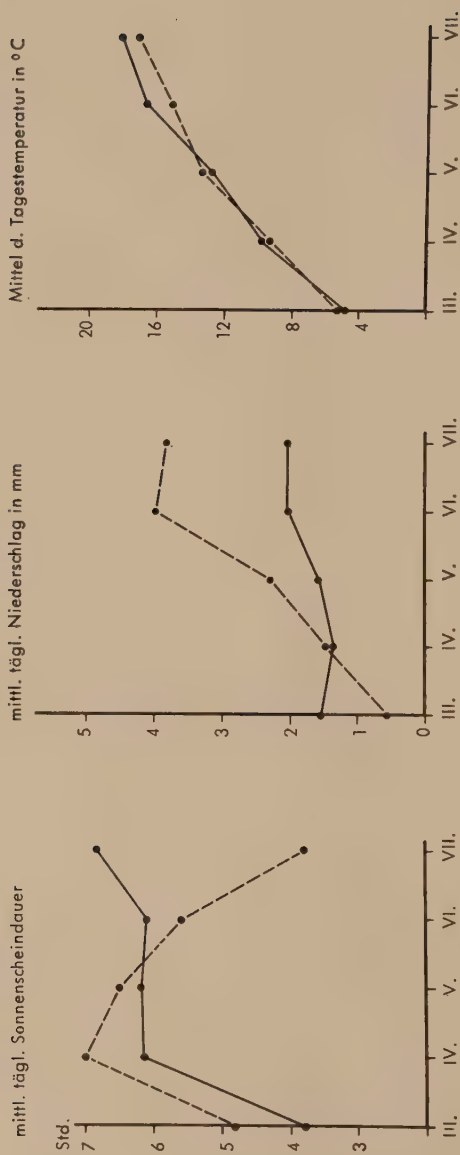


Abb. 28 Witterungsverlauf von März bis Juli auf dem Versuchsgut Höhen

— Mittelwerte der Jahre 1943—1952

- - - Werte für das Jahr 1953

Im vorliegenden Versuch wurde als Versuchsobjekt *Vicia faba* L. gewählt. Bereits 1952 hatte man auf Höfchen Freilandversuche mit „Systox“ zur Bekämpfung von *Doralis fabae* an *Vicia faba* durchgeführt (Unterstenhöfer 1953).

Der Blattlausbefall an *Vicia faba* war auf Höfchen 1953 so niedrig, daß am 30. Juli 1953 nur auf je 48 Pflanzen (± 8 , bei 7 Auszählungen) eine zusammenhängende Blattlauskolonie festgestellt wurde. Irgendein Einfluß des Präparates auf die Pflanze über den insektiziden Effekt hinaus mußte unter diesen Verhältnissen gut hervortreten. Die Anlage des Versuches geht aus Abb. 27 hervor.

Am 9. 3. 1953 waren die Bohnen (weißkeimige, Zwyndrechter) im Abstand von 50×40 cm ausgesät worden. Pro Pflanzloch wurden zwei Samen ausgelegt. Das gesamte Versuchsfeld war in Parzellen von je 4×5 m aufgeteilt.

Neben der „Systox“-Behandlung wurden einige Parzellen des Versuchs mit einem Nikotin-Präparat behandelt. Geringe Förderungseffekte, die durch die Vernichtung einiger nebensächlicher Schädlinge und durch die Abtötung der wenigen vorhandenen Blattläuse zu erklären wären, mußten also auch in den Nikotin-Parzellen auftreten.

Sollte aber das „Systox“ hier auf die Stoffwechselvorgänge im positiven Sinn einwirken, müßte man erwarten, daß in den „Systox“-Parzellen Mehrerträge auftreten würden, die deutlich über die nach Nikotin-Behandlung evtl. auftretenden Erntesteigerungen hinausgehen.

Neben der Spritzbehandlung war für eine Versuchsreihe auch die Beizung der Samen vorgesehen. Das Saatgut war vor der Aussaat mit einem „Systox“-Aktivkohle-Pulver-Präparat behandelt worden. Alle Versuche wurden vierfach wiederholt. Insgesamt enthielt der Gesamtversuch folgende Versuchsreihen:

O, A, B (1—4)	Kontrolle
C (1—4)	0,05 %, 1× gespritzt
D (1—4)	0,10 %, 1× gespritzt
E (1—4)	0,05 %, 2× gespritzt
F (1—4)	0,10 %, 2× gespritzt
G (1—4)	gebeizt

Die Spritzungen wurden zu folgenden Terminen durchgeführt: E, F: 29. 5. 1953; C, D, E, F: 16. 6. 1953. Die Parzellen sind über die Versuchsfläche nach einem Zufallsschema verteilt.

Schon früh waren die jungen Pflanzen nicht unerheblich von *Sitones lineata* befallen. Der Befall ging aber schon bald soweit zurück, daß zur Blütezeit keine nennenswerten Schäden mehr auftraten. *Apion pisi* fand sich nur in sehr geringem Umfang. Auf den geringen Blattlausbefall wurde schon oben hingewiesen. Der Befall verstärkte sich nach der letzten Auszählung bis zum Erntetermin (8./9. 7. 1953) nicht mehr. Der Bestand war gleichmäßig schwach mit Bohnenmosaikvirus befallen.

Die Tabelle 12 gibt einen Überblick über die Ernteergebnisse des Versuchs. Neben den Erträgen der einzelnen Parzellen ($\frac{1}{2}$ kg) sind die mittleren Erträge in dz/ha angegeben. Schließlich wurden zu den Mittelwerten noch die Fehlerprozentage aufgeführt. Die Erträge im Nikotin-Versuch liegen, auch in der Kontrolle, deutlich über den entsprechenden Erträgen des „Systox“-Versuchs. Diese Unterschiede sind dadurch zu erklären, daß der Nikotin-Versuch auf einem Acker angelegt war, der 50 m vom „Systox“-Versuch entfernt, etwas andere

Tabelle 12. Ernteergebnisse eines Freilandversuchs mit *Vicia faba* (Scop.). Die einzelnen Parzellen sind nach dem auf Seite 51 aufgeführten Spritzplan mit verschiedenen „Systox“- bzw. Nikotin-Konzentrationen behandelt.

	Ernteergebnis der „Systox“-Parzelle																Ernteergebnis der Nikotin-Parzelle					
	Hülsen und Bohnen								Kraut und Wurzeln								Hülsen u. Bohnen			Kraut und Wurzeln		
	O	A	B	C	D	E	F	G	O	A	B	C	D	E	F	G	O	F	O	F		
1	49	46	50	51	49	52	50	52	72	61	72	96	65	77	79	78	54	52	102	87		
2 $\frac{1}{2}$ kg	51	47	49	51	52	60	49	65	75	70	81	71	70	81	75	85	51	54	104	100		
3	48	58	48	53	47	52	52	45	73	77	91	85	95	72	78	85	56	57	109	110		
4	45	44	42	44	53	43	49	33	90	58	86	86	74	73	77	84	54	60	99	92		
Mittelwerte $\frac{1}{2}$ kg	48	49	47	50	50	52	53	49	78	67	83	85	76	76	77	84	53	55	104	97		
dz/ha	120	122	117	125	125	130	131	122	196	167	207	212	189	189	192	210	133	137	260	242		
mittlerer Fehler	1,1	1,8	1,3	1,4	1,1	1,05	1,4	2,6	4,2	4,3	4,1	5,2	2,1	2,1	0,9	1,8	1,1	1,8	2,1	5,0		
mittlerer Fehler %	2,3	3,7	2,8	2,8	2,2	2,0	2,6	5,3	5,4	6,4	5,0	6,1	2,8	2,8	1,2	2,1	2,1	3,3	2,0	5,1		

Hanglage und Belichtungsverhältnisse aufwies als die „Systox“-Parzellen. Es mußte somit in Kauf genommen werden, daß die beiden Versuche wohl in sich vergleichbare Ergebnisse lieferten, untereinander aber nicht exakt quantitativ zu vergleichen waren.

Zur Auswertung des Versuchs wurden nebeneinander die Erträge an Hülsen und Bohnen und die Erträge an Kraut und Wurzeln bestimmt. Da das Kraut nicht so sorgfältig parzellenweise abzuernten war wie die Hülsen und zusammen mit den Wurzeln auch stets noch ein geringer, wechselnder Anteil anhaftender Erde mitgewogen wird, liegen die mittleren Felder bei den Erntezahlen der Kraut- und Wurzelmasse etwas höher als die entsprechenden Werte der Bohnen.

Aus der Tabelle 12 geht hervor, daß die Erträge an Wurzeln-, Sproß- und Blattmasse im „Systox“- und im Nikotin-Versuch durch die Spritzung wie auch durch die Saatgutbehandlung in keiner Weise über die Erträge der Kontrollparzellen hinaus gesteigert wurden. Alle auftretenden Differenzen liegen im Fehlerbereich und weisen zudem keine einheitliche Tendenz auf.

Die Erträge an H ü l s e n steigen mit Intensivierung der „Systox“-Behandlung etwas an. Die einmal gespritzten Parzellen heben sich von der Kontrolle schwach ab, und auch die 2. Spritzung steigert die Erträge gleichfalls um einen geringen Betrag. Die Variation der Konzentration macht sich dagegen hier nicht bemerkbar.

Bringt man diese geringen Erntesteigerungsbeträge aber in eine Relation zu den mittleren Fehlern, dann stellt sich heraus, daß im vorliegenden Fall durch die Anwendung des „Systox“ keinerlei Mehrerträge erzielt werden konnten, die sich nach den üblichen Berechnungsverfahren statistisch absichern lassen. Bei einem Vergleich mit dem Nikotinversuch ergibt sich zudem, daß auch hier zwischen Kontrolle und behandelter Parzelle eine gewisse Differenz aufgetreten ist, die offenbar durch den Bekämpfungserfolg gegen die wenigen in den Parzellen vorhandenen Schädlinge erklärt werden muß.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß in diesen Freilandversuchen bei fast vollständigem Fehlen eines Schädlingsbefalls nach Spritzung der Ackerbohne (*Vicia faba* L.) mit „Systox“ keine Mehrerträge aufgetreten sind. Diese Ergebnisse rechtfertigen damit durchaus die im Laborversuch gewonnene Anschauung, daß der hier untersuchte Ester über seine insektizide Potenz hinaus nicht in der Lage ist, die Stoffwechselbilanz der Pflanze und damit die Erträge in meßbarem Umfang zu verbessern.

IV. Diskussion der Ergebnisse

Bei einem Überblick über die Versuche zeigt sich, daß bei direkter Applikation niederer und mittlerer „Systox“-Konzentrationen (0,0001 — 0,001 %) bei den verschiedensten untersuchten pflanzlichen Objekten mit keinerlei Schäden zu rechnen ist. Erst oberhalb dieses Konzentrationsbereichs treten verschiedene Störungen auf. Vergleicht man diesen Befund mit Ergebnissen tierphysiologischer Versuche, so fällt die wesentlich höhere Empfindlichkeit der tierischen Objekte auf. Mückenlarven z. B. werden bereits in 0,00001%iger „Systox“-Lösung (= etwa 0,00000043 molar) abgetötet.

Für Warmblüter gilt im allgemeinen die Auffassung, daß die Vergiftungserscheinungen durch die Präparate der Phosphorsäureester-Gruppe primär auf eine Hemmung der Cholinesterase im Bereich der motorischen Endplatten zurückgeführt werden kann. Nach der Darstellung von Duspiva scheint man auch bei Insekten, trotz der Befunde von Tobias und Mitarb., Hopf u. a., mit einer zentralen Bedeutung der Cholinesterasehemmung nach Begiftung mit Phosphorsäureestern rechnen zu müssen. Es ist nicht endgültig geklärt, wie weit hier außer der Cholinesterasehemmung andere Störungen physiologischer Vorgänge direkt auf die Giftwirkung organischer Phosphorsäureester zurückgeführt werden können.

Bei Protozoen, für die eine Bedeutung der Cholinesterase nicht nachgewiesen ist, treten Störungen der Bewegungs- und Reaktionsweise erst oberhalb von 0,001 % „Systox“-Gehalt in der Lösung auf (mdl. Mittl. Dr. Hecht). Zellphysiologische Beobachtungen an diesen Objekten nach Einsetzen der durch Esterpräparate ausgelösten Störungen liegen nicht vor.

Bei der toxischen Wirkung der Phosphorsäureester auf Insekten und Warmblüter handelt es sich also offenbar um eine spezifische, zentral angreifende Fermentblockierung. Demgegenüber muß man bei Objekten, bei denen das Acetylcholin-Cholinesterase-System oder ein eng verwandter Mechanismus keine so zentrale Stellung einnimmt, also vor allem bei Pflanzenzellen, die erst bei höheren Konzentrationen einsetzende Giftwirkung der Präparate durch einen anderen Giftwirkungsmechanismus erklären.

Hingewiesen sei jedoch auf einen Befund von Aldrige, der in diesem Zusammenhang interessiert: Aus pflanzlichem Gewebe (Orangen) isolierte Acetylesterase wird durch Einwirkung organischer Phosphorsäureester (Tetraäthylpyrophosphat und Diisopropylfluorphosphat) gehemmt. Hier handelt es sich also um eine Parallele zu den zahlreichen Beobachtungen über Hemmung tierischer Esterasen durch Phosphorsäureester (Lit. s. Duspiva).

Jochum kommt auf Grund seiner Untersuchungen an Insekten zu der Ansicht, daß die durch „E 605“ hervorgerufenen Vergiftungserscheinungen, unabhängig von einer Cholinesterasehemmung, auf eine primäre Störung des Wasserhaushalts der begifteten Tiere zurückgeführt werden müssen. Der Hämolyphenschwund, der als primär angesehen wird, wird durch Erhöhung der Wasserpermeabilität nach Eindringen des Esters in die Zellgrenzschichten erklärt.

Diese Vorstellungen lassen sich wohl kaum direkt auf die Verhältnisse nach Einwirken von Esterpräparaten auf pflanzliche Gewebe übertragen, wenngleich die Annahme einer erhöhten Wasserpermeabilität eine einfache Erklärung für den Befund von Tietz bieten könnte, wonach die Wasseraufnahme von Wurzeln durch „Systox“-Gaben gesteigert werden kann. Erwähnt seien auch die Befunde von Linskens (1952), wonach bei Lupinus- und Sinapissamen „E 605“ deutlich quellungsfördernd wirkt.

In den vorliegenden Versuchen, die als erste sich eingehender mit der pflanzenphysiologischen Wirkung des „Systox“ befassen, trat bei den behandelten Objekten mit Erreichen der Schadkonzentration gleichzeitig eine breite Skala allgemeiner Störungen auf. Als verhältnismäßig empfindlich erwiesen sich dabei nach Beobachtungen an *Ankistrodesmus* und *Lemna* die Zellteilungsvorgänge.

Bei einer Überdosierung des Präparates sinken etwa im gleichen Konzentrationsbereich Photosynthese, Nitratassimilation und andere synthetische Vorgänge unter die entsprechenden Werte der präparatfreien Kontrolle. Unbeeinflusst bleibt zunächst die oxydative Assimilation der Glukose. Die Nitratassimilation ist im Licht und im Dunkeln, d. h. unabhängig von der photosynthetischen Tätigkeit der Zellen, gehemmt. Diese Hemmung betrifft sowohl die eigentliche Nitratreduktion als auch die zum Einbau des Ammonsalzes benötigten Synthesen.

Die Synthesehemmungen sind offenbar nicht so schwerwiegend, daß keine Substanzvermehrung mehr erfolgen könnte. Es ist aber damit zu rechnen, daß die Zellfraktionen zugunsten der Kohlenhydrate verschoben werden. So läßt sich auch das Auftreten der Riesenellen bei *Ankistrodesmus* nach „Systox“-Behandlung erklären, das allgemein bei gehemmter Teilung sowie nach Kohlenhydratüberdosierung beobachtet wird.

Zugleich mit den verschiedenen Hemmungen tritt eine Atmungssteigerung auf. Nach den vorliegenden Befunden kann dieser Effekt auf Umlagerungs- oder Nebenprodukte im Präparat zurückgeführt werden. Auch frühere Beobachtungen (Hartley, March und Mitarb.) und Ergebnisse noch nicht abgeschlossener Untersuchungen sprechen für das Vorkommen solcher Nebenbestandteile.

Die pflanzenphysiologischen Versuche weisen also im Gegensatz zu den tierphysiologischen Untersuchungen auf ein recht allgemeines Eingreifen des Präparates hin. Die gleichzeitige Wirkung auf die verschiedensten Stoffwechselvorgänge deuten auf einen unspezifischen Giftwirkungsmechanismus. Diese grundsätzlichen Unterschiede in der Wirkung des „Systox“ bei tierischen und pflanzlichen Objekten bedingt die große Spanne zwischen der *dosis curativa* und der *dosis toxica*, die eine der wesentlichsten Voraussetzungen für die Brauchbarkeit des Präparates als systemisches Insektizid ist.

Versucht man die pflanzenphysiologischen Wirkungen des „Systox“ näher zu erklären, dann läßt sich zunächst nach den chemisch-präparativen Erfahrungen eine Schwermetall-Komplexbildung, durch die eine Reihe von Ferment-systemen blockiert würde, ausschließen (mdl. Mittl. Dr. Schrader).

Demgegenüber aber lassen der im ganzen unpolare Bau des „Systox“ und damit verbunden seine stark ausgeprägten lipophilen Eigenschaften (Schrader), in heterogenen Systemen mit lipophilen und lipophoben Phasen gewisse Veränderungen in den Grenzflächenverhältnissen erwarten. Eine derartige Veränderung der Grenzflächen durch „Systox“ würde von direkter Bedeutung für eine Reihe zellphysiologischer Vorgänge sein, die sich an derartigen Grenzflächen abspielen. Daraus ergibt sich zwangsläufig, daß eine unspezifische und allgemeine Störung der Zellfunktionen erfolgen muß.

In der Praxis werden diese hier diskutierten Schädwirkungen bei normaler Anwendung des Mittels nicht auftreten. In Feldversuchen mit *Vicia faba* (Unterstenhöfer 1953) scheint die Grenze der Schadkonzentration gerade nach einer dreimaligen Behandlung mit 0,1%iger „Systox“-Lösung erreicht zu sein. Aus den Erntezahlen sind hier die ersten Schäden erkenntlich, aber noch nicht statistisch zu sichern. Die Störungen des pflanzlichen Stoffwechsels treten selbstverständlich eher auf, wenn man nicht das Blatt einer Kulturpflanze bespritzt, sondern, wie es in unseren Experimenten der Fall war, den Wirkstoff unmittelbar an die untersuchten Einzelzellen heranbringt. Bei der Anwendung des Präparates in der Praxis geht von der applizierten Wirkstoffmenge ein nennenswerter Anteil verloren (Tietz). Der restliche in das Blatt eindringende Wirkstoff wird dort beträchtlich verdünnt und die Konzentration durch Translokalisierung weiter herabgesetzt. Wie gezeigt wurde, ist auch beim Angießen des Insektizids in den üblichen Dosierungen nicht mit Schäden an den Wurzeln zu rechnen.

Geben die Gebrauchskonzentrationen des „Systox“ bei normaler Applikation keinen Anlaß zu einer Verschlechterung der Stoffwechselgesamtbilanz, so sollte in diesem Zusammenhang auch die Frage geklärt werden, wieweit mit einer evtl. „Stimulationswirkung“ bei Anwendung normaler oder auch niedriger „Systox“-Konzentrationen zu rechnen ist.

Wenn von verschiedenen Seiten der Praxis den insektizid wirksamen Phosphorsäureestern eine „stimulierende“, das heißt nach der in der Praxis gebräuchlichen Ausdrucksweise eine wachstums- und ertragsfördernde Wirkung nachgesagt wird (Lit. s. S. 6), dann hat man derartige Berichte zunächst mit dem nötigen Vorbehalt kritisch zu prüfen. Außer diesen Beobachtungen über eine ertragssteigernde Wirkung von Phosphorsäureestern finden sich ähnliche Angaben über positive Effekte nach Anwendung von Toxaphen (Wille), DDT (Chapman und Allen, Callinan), Hexachlorcyclohexan (Runge, Sellke), Netzschwefel (Hardorn), Thioharnstoff (Popzow), schwefliger Säure und nitrosen Gasen (Wehner), 2,4,5-T-Estern (Agr. Res. Anon.), Quecksilberbeizen (Gassner), „Captan“ (Calif. Spray Chem.) und anderen Substanzen.

In den vorliegenden Arbeiten wurde weder im Laborversuch noch im Freiland ein Hinweis dafür gefunden, daß bei den untersuchten Objekten die Stoffwechselgrundvorgänge durch „Systox“ und auch durch „Schradan“ in einer Weise beeinflußt werden, die zu einer Verbesserung der Stoffwechselgesamtbilanz führen würde. Bei Anwendung niedriger und mittlerer Konzentrationen verhielt sich Wirkstoff und Emulgator des „Systox“ in jedem Fall vollständig indifferent.

Die zahlreichen Veröffentlichungen über positive Wirkungen der Phosphorester, die über die insektizide Wirkung hinausgehen sollen, berichten jedoch meist über so augenfällige Effekte, daß man sie bei einer Diskussion der „Systox“-Wirkungen nicht außer Betracht lassen kann. In einer Reihe von Fällen lassen sich die beschriebenen „Stimulationen“ in einfacher Weise auf indirekte bzw. relative Förderungen zurückführen.

So wird mehrfach bei einschlägigen Befunden auf Trockenschäden in den Kontrollparzellen der Freilandversuche aufmerksam gemacht (Wolfenbarger, Zattler, 1952). Da bei Behandlung mit Phosphor-Ester-Präparaten („E 605“) infolge einer Verbesserung der Benetzbarkeit (Linskens) die behandelten Versuchspflanzen bei Wasserdefizit einen Vorteil genießen (bessere

Ausnutzung von Tauniederschlägen) müssen die Kontrollen in solchen Fällen eine Ertragsdepression erleiden, die fälschlich als „Stimulation“ der behandelten Pflanzen aufgefaßt werden kann. In allen Freilandversuchen ist ferner ein geringer, vielleicht nebensächlich erscheinender Schädlingsbefall nie vollständig auszuschließen. Die beobachteten Mehrerträge lassen sich daher in manchen Fällen so deuten, daß eine durchschlagende Bekämpfung auch einer unbedeutenden Schädlingsfauna zu leichten Verbesserungen der Ernte führt, wobei dann der Eindruck eines direkten positiven Eingreifens des Präparates in das Stoffwechselgeschehen der behandelten Pflanze entsteht.

Abschließend läßt sich sagen, daß „Systox“ in niedrigen und mittleren Dosen in keiner Weise auf die stoffwechselphysiologischen Vorgänge in den untersuchten Pflanzen wirkt. Bei Überdosierung läßt sich, aufsteigend von einer gewissen Konzentrationsschwelle, für jedes Pflanzenschutzmittel ein Schädigungsbereich mit allgemeinsten Schadenssymptomen nachweisen. So sind auch die hier aufgeführten Störungen zu verstehen. Wesentlich für den Wert eines Pflanzenschutzmittels ist, daß bei normaler Applikation diese Schwelle nicht erreicht wird. Die Differenz zwischen der *dosis curativa* und der *dosis toxica* ist beim „Systox“ so groß, daß hier die Forderungen, die man an die pflanzenphysiologische Verträglichkeit eines systemischen Pflanzenschutzmittels stellen muß, erfüllt zu sein scheinen.

V. Zusammenfassung der Ergebnisse

1. Das Wachstum der Kressewurzel wird durch „Systox“-Lösung mit über 0,005 % Wirkstoffgehalt gehemmt, während niedriger konzentrierte Lösungen keinerlei Einfluß haben. Vergleichende Untersuchungen an *Lemna*-Wurzeln sprechen dafür, daß es sich dabei in erster Linie um eine Hemmung der Teilungsvorgänge handelt, während Streckung und Plasmawuchs zunächst weniger stark betroffen werden. Das Auftreten von „Riesenzellen“ bei Kultur der einzelligen Grünalge *Ankistrodesmus* in gesättigter Wirkstofflösung läßt sich in ähnlicher Weise deuten.
2. Die Trockengewichtsproduktion von *Ankistrodesmus* geht in 0,005%iger „Systox“- und in 0,014%iger „Schradan“-Lösung deutlich zurück. Niedrige und mittlere Konzentrationen beeinflussen das Wachstum der Zellen nicht.
3. Mit Hilfe eines mit ^{32}P markierten „Systox“-Präparates ließ sich zeigen, daß der Wirkstoff von fettreichen (N-Mangel) Algen in höherem Umfang ($> 30\%$) gespeichert wird als von fettfreien Zellen. Aus fettspeichernden Zellen ist das Präparat wesentlich schwieriger auszuwaschen als aus normalen Zellen.
4. In „Systox“-Lösungen ($> 0,005\%$ Wirkstoffgehalt) kommt es zu einer reversiblen Steigerung des respiratorischen O_2 -Verbrauchs und der CO_2 -Abgabe (*Ankistrodesmus*, *Chlorella*, *Helodea*). Bei Verwendung frischer Lösungen tritt diese Störung nur in Gegenwart der P=S-Isomere, nicht aber in den Lösungen und Emulsionen der P=O-Isomere auf. Ältere Lösungen der P=O-Isomere steigern die Atmung gleichfalls. Niedrige Wirkstoffkonzentrationen verhalten sich indifferent. Es wird angenommen, daß die Atmungssteigerung eine Wirkung von Umlagerungsprodukten oder Nebenbestandteilen ist.
5. Die durch „Systox“ hervorgerufene Atmungssteigerung läßt sich durch Glukose-Zusatz nicht verstärken. Die „exogene“ Glukose-Atmung erreicht bei „Systox“-Gegenwart langsamer als in der Kontrolle ihren Höchstwert. Möglicherweise spielen hier Änderungen in den Permeabilitätsverhältnissen eine Rolle. Eine Änderung des synthetischen Wirkungsgrades der Glukose bei „Systox“-Gegenwart ist nicht nachzuweisen.
6. Bei *Tradescantia*- und Zuckerrüben-Wurzeln tritt nach „Systox“-Zusatz keine Steigerung des respiratorischen O_2 -Verbrauchs auf. Erst Lösungen mit mehr als 0,06 % Wirkstoffgehalt führen bei *Tradescantia*-Wurzeln zu starken irreversiblen Schäden. Unter Verwendung eines radioaktiv-markierten Präparates wurde gezeigt, daß bei Angießen des Präparates in den Boden im Wurzelbereich keine Konzentrationen erreicht werden, die Wachstum und Stoffwechsel der Wurzel ungünstig beeinflussen.
7. Die atmungssteigernden Konzentrationen ($> 0,005\%$ Wirkstoffgehalt) rufen bei *Ankistrodesmus* und *Helodea* eine etwa 20%ige Photosynthesedepression hervor. Beide Isomeren wirken auf die Photosynthese in gleichem Umfang. Gleiche Wirkung zeigte auch eine „Schradan“-Lösung vergleichbarer Konzentration. Niedrige Konzentrationen sind auch hier ohne Wirkung. Die Depression der photosynthetischen Leistung läßt sich durch Entfernung des Präparates weit schneller aufheben als die Atmungssteigerung.

8. Die mit dem Einbau von Ammonsalz verbundenen Synthesen und die Nitrataassimilation sind in 0,01%iger „Systox“-Lösung gehemmt. Die respiratorischen und photosynthetischen Quotienten bei „Systox“-Gegenwart liegen infolgedessen in ammon- wie in nitrathaltiger Nährlösung deutlich tiefer als die entsprechenden Werte in präparatfreier Kontrolle.
9. Feldversuche an *Vicia faba* zeigten, daß bei Ausschaltung jedes Schädlingsbefalls nicht mit einer Ertragssteigerung durch „Systox“-Anwendung zu rechnen ist. Dieser Befund schließt sich widerspruchlos an die Ergebnisse der Laboratoriumsversuche an.

VI. Formelanhang

Formeln zur Korrektur der mit dem Geiger-Müller-Zähler gewonnenen Meßergebnisse

1. Fehler, die durch mangelnde Trennschärfe des Meßgerätes entstehen, werden nach der folgenden Formel eliminiert:

$$\text{Die wahre Impulszahl } N_0 = \frac{N}{1 - N\tau}$$

N ist dabei die Anzahl der vom Gerät registrierten Impulse. τ ist die Auflösungszeit in Sekunden, die Zeit, die zwischen 2 Impulsen verstreichen muß, wenn sie getrennt registriert werden sollen. τ war bei dem vorliegenden Gerät mit 10^{-5} angegeben.

2. Von dem so ermittelten Wert N_0 subtrahiert man den in gleicher Zeit gemessenen Nulleffekt.
3. Nach Durchführung dieser beiden Korrekturen muß der ermittelte Wert auf den Tag 0, einen beliebig zu wählenden Termin nach Herstellung des Isotops, umgerechnet werden, da die Aktivität des Präparates mit der Zeit (in Tagen) abnimmt. Die Aktivitätsabnahme hängt von der Zerfallskonstante λ ab.

$$\text{Wahre Impulszahl am Tage 0: } N = N_0 \cdot e^{\lambda t}$$

Drückt man λ als Funktion der Halbwertszeit T aus, dann ergibt sich

$$N = N_0 \cdot e^{- (\ln 2) \frac{t}{T}}$$

Für ^{32}P mit einer Halbwertszeit von 14,295 Tagen beträgt dieser Korrekturfaktor demnach:

$$N = N_0 \cdot e^{(-0,0485 \quad t)}$$

Manometrische Methodik Formeln zur Berechnung des Gaswechsels

$$\text{Gefäßkonstante } K = \frac{V_G \frac{237}{T} + V_F \alpha}{P_0}$$

Dabei bedeuten:

V_G : Volumen des Gasraums in mm^3

V_F : Flüssigkeitsvolumen in mm^3

T : Absolute Versuchstemperatur

α : Bunsen'scher Absorptionskoeffizient des gemessenen Gases (CO_2 bzw. O_2)

P_0 : Normaldruck in mm Brodie'scher Flüssigkeit (10000)

1. Direkte KOH-Methode

$$x_{O_2} = h \cdot k_{O_2}$$

x = In der Versuchszeit entstanden bzw. verbrauchte Gasmenge in mm³ (760 mm, 0°)

h = beobachtete Druckänderung in mm *Brodie'scher* Flüssigkeit

k = Gefäßkonstante

2. Direkte Zweigasmethode

$$x_{O_2} = h \cdot \frac{k_{O_2} \cdot k_{CO_2}}{k_{CO_2} + \gamma k_{O_2}}$$

$$\gamma = \text{Gaswechselquotient} = \frac{+ x \text{ CO}_2}{- x \text{ O}_2}$$

3. Gefäß-Differenz-Methode

$$x_{O_2} = \frac{h \cdot k_{CO_2} - H \cdot K_{CO_2}}{\frac{k_{CO_2}}{k_{O_2}} - \frac{K_{CO_2}}{K_{O_2}}}$$

$$x_{CO_2} = \frac{h \cdot k_{O_2} - H \cdot K_{O_2}}{\frac{k_{O_2}}{k_{CO_2}} - \frac{K_{O_2}}{K_{CO_2}}}$$

H : Druckänderung in den Gefäßen mit kleinem Gasvolumen

h : Druckänderung in den Gefäßen mit großem Gasvolumen

K : Gefäßkonstante der Gefäße mit kleinem Volumen

k : Gefäßkonstante der Gefäße mit großem Volumen

4. ± KOH-Methode

Bestimmung von x_{O_2} nach der direkten KOH-Methode:

$$x_{O_2} = h \cdot k_{O_2}$$

$$x_{CO_2} = (h' - \frac{x_{O_2}}{k'_{O_2}}) k'_{CO_2}$$

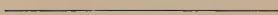
h' und k' : Werte für die Gefäße ohne KOH

Meinem hochverehrten Lehrer

Herrn Professor Dr. André Pirson

danke ich an dieser Stelle herzlichst für das stets entgegengebrachte Wohlwollen und für viele wertvolle Anregungen.

Herrn Dr. Adalbert Moenikes, Leiter der Pflanzenschutzabteilung der Farbenfabriken Bayer Aktiengesellschaft, Leverkusen, danke ich für die Anregung des Themas, für den auf dem Versuchsgut Höfchen bereitgestellten Arbeitsplatz und für die fortgesetzte großzügige Förderung der Arbeit.



Literaturverzeichnis

- Alberts-Dietert, F., 1941:
„Die Wirkung von Eisen und Mangan auf die Stickstoffassimilation von *Clorella*“; *Planta* 32 S. 88—117.
- Aldridge, W. N., 1954:
“Anticholinesterases. Inhibition of Cholinesterases by Organo-Phosphorous Compounds and Reversal of this Reaction”; *Chem. and Ind.* 17, S. 473—476.
- Allen, T. C., and J. E. Casida, 1951:
“Criteria for Evaluating Insecticidal Phytotoxicity — Areal Growth”; *Journ. Econ. Ent.* 44, S. 737—740.
- Ashdown, D., and H. B. Corder, 1952:
“Some Effects on Insect Control and Plant Response of a Systemic Insecticide Applied as a Spray, a Seed Treatment or a Soil Treatment”; *Journ. Econ. Ent.* 45, S. 302—307.
- Beck, H., 1952:
„Über die Wirkung verschiedener neuer Kontaktinsektizide auf das Wachstum der Kressewurzel“; *Zeitschr. f. Pflanzenbau und Pflanzenschutz* 5, S. 222—238.
- Bosse, H. C., 1952:
„Versuche mit einem neuartigen Schädlingsbekämpfungsmittel im Gartenbau“; *Höfchen-Briefe* 5, S. 81—82.
- Brüggemann, O., 1954:
„Wirkungen des Stickstoffmangels bei einzelligen Grünalgen“; *Diss. Marburg.*
- California Spray Chem. (Anonym), 1954:
„Zweite europäische Orthocidkonferenz“, Zürich, Nov. 1954; *Calif. Spray Chem. Comp. Francaise.*
- Callinan, F. P., 1949:
“New Insecticides, their Effects on Plants and Soil”; *Journ. Ent.* 42, S. 387—391.
- Casida, J. E., and T. C. Allen, 1951:
“A Laboratory Method for Evaluating the Phytotoxicity or Phytostimulation of Insecticides”; *Science* 113 (2941), S. 553—555.
- Ders. und T. C. Allen, 1951:
“Criteria for Evaluating Insecticidal Phytotoxicity — Root Growth”; *Journ. Econ. Ent.* 44, S. 741—746.
- Ders. und R. K. Chapman and T. C. Allen, 1952:
“Relation of Absorption and Metabolism of Octamethylpyrophosphoramidate by Pea Plants to Available Phosphorus”; *Journ. Econ. Ent.* 45; S. 568—578.
- Chapman, R. K., and T. C. Allen, 1948:
“Stimulation and Suppression of some Vegetable Plants by DDT”; *Journ. Econ. Ent.* 41, S. 616—623.
- Chodat, R., 1909:
«Étude critique et expérimental sur le polymorphisme des Algues»; *Geneve.*
- Ciferri, E., und F. Bertossi, 1949 (Zit. Beck):
Experientia 5, S. 280—281.
- Clauss, H., 1952:
„Kritische Untersuchungen über den Kressewurzeltest von Moewus“; *Z. Naturf.* 7b, S. 112—117.
- Cox, A. J., 1943:
“Terminology of Insecticides, Fungicides and other Economic Poisons”; *Journ. Econ. Ent.* 36 S. 813—821.
- Cramer, M., and J. Myers, 1949:
“Effects of Starvation on the Metabolism of *Chlorella*”; *Plant Physiol.* 24; S. 255—264.
- David, W. A. L., 1951:
“Insecticidal-action studies with bis(dimethylamino)phosphorous anhydride containing ³²Phosphorus”; *Ann. appl. Biol.* 38; S. 508—524.
- Dixon, M., 1951:
“Manometric Methodes” (3rd Edition); Cambridge University Press.

- Duspiva, F., 1954:
„Untersuchungen über die Wirkungsweise von Insektiziden“; Verh. d. deutsch. Ges. f. angew. Entom. (12. Mitgl.-Vers.); S. 128—134.
- Emmerson, R., and L. Green, 1938:
“Effect of hydrogenion concentration on *Chlorella* Photosynthesis”; Plant Physiology 13, S. 157—168.
- Endrigkeit, A., 1954:
„Ist eine weitere Vereinfachung der Kohlfliegenbekämpfung möglich?“; Gesunde Pflanze 6, S. 145—150.
- Foster, A. C., 1951:
“Some Plant Responses to certain Insecticides in the Soil”; U.S. Dept. agric. Circ. 862 S. 41.
- Frohberger, P. E., 1949:
„Untersuchungen über das Verhalten des Insektizides Diäthyl-p-nitrophenylthiophosphat („E 605“) auf und in der Pflanze“; Höfchen-Briefe 1949/2, S. 10—91.
- Gaffron, H., 1939:
„Über auffallende Unterschiede in der Physiologie nahe verwandter Algengestämme, nebst Bemerkungen über Lichtatmung“; Biol. Zentralbl. 59, S. 302—313.
- Gassner, G., 1953:
„Frühtreiben durch Beizung mit quecksilberhaltigen Beizmitteln“; Angew. Bot. 27, 2. S. 37—47.
- Gassner, R.:
„Über das Verhalten von selektiven Insektiziden mit Tiefenwirkung in der Pflanze“; Ber. d. Schweiz. Botan. Gesell. 62, 1952, S. 66—79.
- Geisler, E., 1950:
„Einige Beobachtungen über den Einfluß des Hexachlorcyclohexan auf die Pflanze“; Nachrichtenbl. f. d. dt. Pflanzenschd. 2, S. 131—135.
- Göllner, E., 1952:
„Untersuchungen zur Zellphysiologie des Stickstoff- und Phosphormangels grüner Pflanzen“; Diss. Marburg.
- Hadorn, C., 1952:
„Die biologischen und chemischen Grundlagen der Schädlingsbekämpfung“; Der Pflanzenarzt, 5. Jahrg., März 1952.
- Hanna, A. D., 1952:
“Investigations on the Use of Systemic Insecticides to Control the Mealybug-Vector of the Swollen Shoot Disease in Cocoa”; Proc. 3rd Inter. Congr. Crop Prot., Paris.
- Hartley, G. S., 1952:
“The Anomaly of ‘Systox’ ”; World Crops, November, S. 397.
- Hecht, G., und W. Wirth, 1950:
„Zur Pharmakologie der Phosphorsäureester“; Arch. exp. Path. u. Pharmakol., Bd. 211, 3, S. 264—277.
- Hopf, H. S., 1952:
Ann. Appl. Biol. 39 S. 193 (Zit. Duspiva).
- Ders. und W. R. Boom, 1951:
“Injection Experiments on Cholinesterase Inhibition of Insecticides on Locusts”; Abstr. Papers IXth Int. Congr. Ent. Amsterdam IV, 5.
- Jochum, K. F., 1954:
„Durch Diäthyl-p-Nitrophenylthiophosphat abgeänderte Reaktionsketten im Insektenorganismus“; Diss. Köln.
- Incho, H. H., and Greenby, 1952:
“Synergistic Effect of Piperonylbutoxyde with the Active Principles of Pyrethrum and with Allethrolone-esters of *Chrysanthemum* acids”; Journ. Econ. Ent. 45, 5, S. 794—799.
- Kasting, R., and Woodward, J. C., 1951:
“Persistence and Toxicity of Parathion when added to the Soil”; Sci. Agric. 31; S. 133—138.
- Kessler, E., 1953:
„Nitridbildung und Atmung bei der Nitratreduktion von Grünalgen“; Ztschr. f. Naturforschung, Bd. 7b, 5, S. 280—284.

- Ders., 1953:
„Über den Mechanismus der Nitratreduktion bei Grünalgen, II“; Arch. f. Mikrobiol., Bd. 19, S. 438—457.
- Krebs, H. A., 1929:
„Methoden der manometrischen Messung von Atmung und Gärung“ in Oppenheimer „Die Fermente“, Bd. 3 S. 646 ff.
- Krollpfeiffer, J., 1951:
„Untersuchung der Gaswechselquotienten von Grünalgen und deren Beziehung zur Nitratassimilation“; Diss. Marburg.
- Linskens, H. F., 1952:
„Über den Einfluß von ‚E 605‘ auf den Quellungsverlauf“; Höfchen-Briefe 5, 1, S. 33—35.
- Linskens, H. F., 1951:
„Über Änderung der Benetzbarkeit von Blattoberflächen nach Spritzungen“; Zschr. f. Pflanzenkrankh. und Pflanzenschutz, Bd. 58; S. 327—332.
- March, R. B., Metcalf, R. L., and Fucuto, T. R., 1954:
„Paper chromatography of the systemic insecticides Demeton and Schradan“; Agric and Food Chem. 2, 14, S. 732—735.
- Martin, H., 1947:
„Important new Discoveries in Plant Protection“; Grower, April, S. 26.
- Martin, R. P., and R. S. Russel, 1950:
„Studies with Radioactive Tracers in Plant Nutrition II“; Journ. exp. Bot. 1, S. 141—158.
- Mayer, E. L., E. R. McGovern, F. B. Tallay and J. J. Willaman, 1950:
„Tests for Synergism between Nicotine and Phthalonitrile and between Nicotine and 2,3,4,5,6-Pentachloranisole“; Journ. Econ. Ent. 43, S. 533—537.
- Moewus, F., 1949:
„Der Kressewurzelttest, ein neuer quantitativer Wuchsstofftest“; Biol. Zentralbl. 68 S. 118—140.
- Ders., 1948:
„Ein neuer quantitativer Test für pflanzliche Wuchsstoffe“; Naturwiss. 35, S. 124—125.
- Müller, A., 1926:
„Die innere Therapie der Pflanze“; Berlin.
- Myers, J., 1949:
„The Pattern of Photosynthesis in *Chlorella*“ in: „Photosynthesis in Plants“; Edited by J. Frank and W. E. Loewis, The Iowa State Coll. Press, S. 349—364.
- Ders., 1947:
„Oxidative Assimilation in relation to Photosynthesis in *Chlorella*“; J. Gen. Physiol. 30, S. 217.
- Niemann, E., 1952:
„Vergleichende Untersuchungen über die Ausscheidung keimungshemmender Stoffe aus Früchten und Samen unter besonderer Berücksichtigung von *Foeniculum vulgare* Miller“; Flora 139, S. 195—199.
- Nolan, K., and F. Wilcoxon, 1950:
„Method for Bioassay for Traces of parathion in Plant Material“; Agric. Chem. 5, (1), S. 53—74.
- Pirson, A., und E. Göllner, 1953:
„Beobachtungen zur Entwicklungsphysiologie der *Lemna minor* L.“; Flora, Bd. 140, S. 485—498.
- Ders. und K. Kellner, 1952:
„Physiologische Wirkungen des Rubidiums“; Ber. Dtsch. Bot. Ges., Bd. 65, 8, A. 276—286.
- Ders., I. Krollpfeiffer und G. Schäfer, 1953:
„Leistungsfähigkeit und Fehlerquellen manometrischer Stoffwechselfmessungen“; Marburger Sitzungsberichte, 76, Heft 2, S. 3—27.
- Ders. und F. Seidel, 1950:
„Zell- und stoffwechselphysiologische Untersuchungen an *Lemna minor* L.“; Planta, Bd. 38, S. 431—473.

- Ders. und C. Tichy und G. Wilhelmi, 1952:
„Stoffwechsel und Mineralsalzernährung einzelliger Grünalgen“; *Planta*, Bd. 40,
S. 199—253.
- Popzow, A. W., 1952:
„Thioharnstoff als Stimulans beim Keimen der Samen von Kok-Saghyss und
Tau-Saghyss“; *Ber. d. Akad. d. Wiss. d. UdSSR (neue Serie)*, Bd. 84, 3,
S. 619—622.
- Pringsheim, E. G., 1951:
„Die Sammlung von Algen-, Flagellaten- und Mooskulturen am Botan. Inst.
der Universität Cambridge“; *Arch. f. Mikrobiol.*, Bd. 16, S. 1—17.
- Reinert, J., 1952:
„Wuchsstoffteste“; *Ztschr. f. Bot.*, Bd. 40, 1, S. 77—81.
- Ripper, W. E., R. M. Greenslade and L. A. Lickerish, 1949:
„Combinated Chemical and Biological Control of Insects by Means of a
systemic Insecticide“; *Nature* 163, S. 787—789.
- Rümker, v. R., 1951:
„Über die Ökologie von *Askochyta pinodella* und *Fusarium culmorum* in der
Rhizosphäre anfälliger und nicht anfälliger Pflanzen“; *Phytopath. Ztschr.*,
Bd. 18, 1.
- Runge, N., 1952:
„Ertragssteigerung bei Tomaten und Bohnen, bedingt durch eine Blütensprit-
zung mit Hexachlorcyclohexan“; *Angew. Bot.*, Bd. 26, 3/4, S. 130—138.
- Russel, R., and R. P. Martin, 1950: „Studies with Radioactive Tracers in Plant
Nutrition I“; *J. exp. Bot.* 1, S. 133—140.
- Schopfer, W. H., und M. L. Bein:
Experientia 4, 1948, S. 147—148 (Zit. Beck).
- Schrader, G., 1952:
„Die Entwicklung neuer Insektizide auf Grundlage organischer Fluor- und
Phosphorverbindungen“; *Monogr. z. Angew. Chem. und Chem. Ing. Techn.* 62.
- Schubert, G., W. Dittrich, H. Künkel und H. J. Schwermund, 1951:
„Bedeutung und Anwendung der Isotopenforschung in Biologie und Medizin I“,
Strahlentherapie 84, S. 165, II *Strahlentherapie* 84, S. 228.
- Schulze, K., 1953:
„Ungiftige Schädlingsbekämpfung mit natürlichen und synthetischen Pyrethri-
nen“; *Schädlingsbek.* 5, S. 69—73.
- Sellke, K.:
„Die Pflanzenschutzmittel der DDR“; *Die deutsche Landwirtschaft* 27.
- Spoehr, H. A., J. H. C. Smith, H. H. Strain, H. W. Millner and G. J.
Hardin, 1949:
„Fatty-acid Antibacterials from Plants“; *Carnegie Inst. Washington Publ.*
No. 586, S. 67.
- Syrett, P. J., 1951:
„The Effect of Cyanide on the Respiration and the Oxidative Assimilation of
Glycose by *Chlorella vulgaris*“; *Ann. of Bot. N.S. Vol. XV*, S. 473—492.
- Tietz, H., 1953:
„Das Eindringungsvermögen, die Wanderung und die Ausscheidung von ^{32}P -
markiertem ‚Systox‘ bei höheren Pflanzen“; *Diss. Köln*.
- Tobias, J. M., J. J. Kollros and J. Savit, 1946:
J. Cell. Comp. Physiol. 28, S. 159 (Zit. Duspiva).
- Turner, N., 1953:
„Methylenedioxyphenol Synergists for Insecticides“; *The Connecticut Agric.*
Exper. Station, New Haven, Bull. 570, April.
- Umbreit, W., Burris, W. W. R. H., and Staufer, J. F., 1945:
„Manometric technics and related Methods for the Study of Tissue Meta-
bolism“; *Minneapolis, Burgess, Publ. Comp.*
- Unterstenhöfer, G., 1953:
„Freilandversuche mit dem systemischen Insektizid ‚Systox‘ gegen die schwarze
Bohnenlaus (*Doratis fabae* Scop.) an Ackerbohne (*Vicia faba* L.)“; *Höfchen-*
Briefe 1953/2, S. 121—130.

- Ders., 1952:
„Über das innertherapeutische Insektizid ‚Systox‘“; Meded. Landbouwhogeschool Gent, 17, S. 75.
- Vischer, W., 1920:
«Sur le polymorphisme de l'*Ankistrodesmus Braunii* (Naegeli) collins»; Ztschr. f. Hydrologie (Aarau) 1, S. 5—50.
- Warburg, O., and D. Burk, 1950:
„The maxium Efficiency in Photosynthesis“; Arch. Biochem., Bd. 25, S. 423.
- Ders. und E. Negelein, 1920:
„Über die Reduktion von Salpetersäure in grünen Zellen“; Biochem. Z. 110, S. 66—115.
- Wehner, O., 1928:
„Untersuchungen über die chemische Beeinflußbarkeit des Assimilationsapparats“; Planta 6, S. 543—590.
- Wille, J. E., 1952:
„Probleme der landwirtschaftlichen Schädlingsbekämpfung in Peru“; Naturwiss. 39, 5, S. 105—106.
- Wolfenbarger, D. O., 1948:
„Nutrial value of phosphoric Insecticides“; Journ. Econ. Ent. 41, 5; S. 818—819.
- Zattler, F., 1952:
„Innertherapeutische Bekämpfung der roten Spinnmilbe und Blattlaus im Hopfenbau“; Hopfenrundschau 10, Mai 1952.
- Ders., 1951:
„Versuche mit ‚Systox‘ und anderen innertherapeutischen Mitteln gegen rote Spinnmilbe und Blattläuse bei Hopfen“; Höfchen-Briefe 1951/4.
- Ders. und W. Linke, 1950:
„Spritzversuche mit Kupfermitteln im Hopfenbau mit und ohne Beimischungen von ‚E 605‘ im Jahre 1949“; Pflanzenb. und Pflanzensch. 2, S. 49—63.
- Zeid, M. M. I., and L. K. Kuthomp, 1951:
„Effects associated with Toxicity and Plant translocation of three Phosphate Insecticides“; Journ. Econ. Ent. 44, 6.
- Anonym, 1953:
„Making Limas Live Longer, Yield More“; Agric. Res., November 1953, 12.

LEBENS LAUF

Am 22. 3. 1925 wurde ich, Richard W. Wäckers, als zweiter Sohn des Studienrates Josef Wäckers und seiner Ehefrau Gertrud geborene Feinendegen zu Mönchen-Gladbach geboren. Nach vierjährigem Besuch der Grundschule wurde ich 1935 Schüler des humanistischen Gymnasiums meiner Heimatstadt. Ostern 1943 legte ich dort meine Reifeprüfung ab. Vom Sommer 1943 bis Juli 1945 war ich Soldat.

Sommersemester 1946 begann ich mein Studium an der Philipps-Universität zu Marburg. Im Sommersemester 1951 legte ich dort mein Staatsexamen für das höhere Lehramt mit den Fächern Biologie, Chemie und Geographie ab. Anschließend arbeitete ich für zwei Monate am Institut für Pflanzenkrankheiten der Universität Bonn. Von Februar 1952 bis Frühjahr 1954 führte ich auf dem Versuchsgut Höfchen der Farbenfabriken Bayer Aktiengesellschaft experimentelle Arbeiten über die pflanzenphysiologische Wirksamkeit des systemischen Insektizids „Systox“ durch.

Meine akademischen Lehrer waren die Herren Professoren und Dozenten: Alverdes, Claussen, Grüneisen, Hock, Kessel, Koller, Luther, Mahr, Meerwein, Pirson und Steffen.

